BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

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

“Neuroplasticidad en corteza insular ante inflamación pulpar.”

PRESENTA: L.E. Hillary Carolina Vázquez Cantú.

DIRECTOR DE TESIS: D.C. Ismael Juárez Díaz. ID: 100517019.
ASESOR DISCIPLINARIO: D.C. Brenda Eréndida Castillo Silva. ID: NSS526469.
ASESOR METODOLÓGICO: E.E. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero. ID: 100526940.
LECTOR: D.C. Julia Flores Tochihuitl. ID:100228022.

MAYO 2024

BUAP

Oficio No. FESIEP/CIFE/028/2024

C. Hillary Carolina Vázquez Cantú
Estudiante de la Maestría en Estomatología
con opción en Terminal en Endodoncia
Matrícula No.: 222450003
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, la que suscribe MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; para comunicarle una noticia importante en relación con su proceso académico.

Con agrado, le informo que la Secretaría de Posgrado ha otorgado la aprobación para la impresión de su Tesis Titulada:

"Neuroplasticidad en corteza insular ante inflamación pulpar".

Esta tesis está inscrita en el libro de registros No. 08, página 01, con el No. de asignación 2023194, en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica. Usted presentará esta tesis para realizar su examen profesional y así obtener el grado de Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Endodoncia.

La aprobación de la impresión de su tesis represente un hito significativo en su trayectoria académica y profesional. Es el reflejo de su arduo trabajo, dedicación y la profundidad de su investigación en el campo de la Estomatología.

Le insto a que proceda con los pasos necesarios para la impresión y presentación de Tesis, cumpliendo con todas las normativas y plazos establecidos por la Facultad. Esto incluye la revisión final de su documento, asegurándose de que desempeñe todos los requisitos académicos y formatos establecidos, así como la coordinación con la Secretaría para la programación de su examen profesional.

Para cualquier consulta, aclaración o información adicional, le invito a contactar directamente a este Posgrado, estamos aquí para asistirla en cada paso restante de su proceso académico.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

A t e n t a m e n t e
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a jueves 16 de mayo del 2024.

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología

**** Nota:** Se anexa Formato de Impresión de Tesis – C. Hillary Carolina Vázquez Cantú – Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Endodoncia – S.I.E.P. – Facultad de Estomatología - B.U.A.P. (origina) - p.s.c.y a.*
**C.c.p. Archivo*
**MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/~~yaneth~~*

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

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 Endodoncia***

Registro CIFE: *2023194.* ***Fecha:*** *jueves 16 de mayo del 2024.*

Título de la Tesis: *"Neuroplasticidad en corteza insular ante inflamación pulpar".*

Nombre del alumno: *Hillary Carolina Vázquez Cantú* ***Matrícula:*** *222450003.*

Domicilio: *Av. Autónoma de Puebla #7330 Col. Universidades.*

Tel: *22*28 55 76 26.* ***Fecha de ingreso a la Facultad:*** *lunes 03 de enero de 2022.*

Firma: _____

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

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:*** *100517019.* ***Tel:*** *22*25 79 36 15.*

Firma: _____

Director Disciplinario: *DC. Brenda Eréndida Castillo Silva.* ***Grado académico****: Doctora en Ciencias Odontológicas.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID****: NSS526469.* ***Tel:*** *44*42 42 60 77.*

Firma: _____

Director Metodológico: *ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero.* ***Grado académico:*** *Especialista en Endodoncia.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:*** *100526940.* ***Tel:*** *22*23 58 63 44.*

Firma: _____

Lector: *DC. Julia Flores Tochihuitl.* ***Grado académico:*** *Doctora en Ciencias Químico-Biológicas.*

Adscripción: *Facultad de Estomatología.* ***ID:*** *100228022* ***Tel:*** *22*25 46 67 11.*

Firma: _____

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

ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero ***Firma:*** _____

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

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana

Fecha: *jueves 16 de mayo del 2024.* ***Sello*** _____

Constancia No. FESIEP/CIFE/081/2023

DC. Ismael Juárez Díaz
Responsable del Proyecto
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, **la Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; hace constar,** que, **el Proyecto de Investigación** (Colectivo):

"Neuroplasticidad en corteza insular ante inflamación pulpar".

Presentado por:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Responsable del Proyecto:	DC. Ismael Juárez Díaz	100517019
2	Director Metodológico:	ME. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero	100526940
3	Director Disciplinario:	DC. Brenda Eréndida Castillo Silva	NSS526469
4	Alumna de Maestría: Terminal en Endodoncia	C. Hillary Carolina Vázquez Cantú	222450003

ha sido **ACEPTADO**, y quedara registrado en esta Secretaría de Posgrado, **en el libro de registros 08 en la hoja 01 con No. de registro 2023194.**

Por lo anterior, **se estableció en la Minuta No. 02/2023,** que, "**El responsable del Proyecto de Investigación se compromete a entregar los informes parciales y finales en los meses correspondientes de julio y diciembre de año en curso, de acuerdo con lo solicitado por el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.).**

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

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 31 de mayo de 2023

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

*C.c.p. Archivo
*MTRO. FJMA/DR.FADV/~~Vaneth~~

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

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Odontología
Sociedad Nacional de Investigadores en Odontología, A. C.

ENIO 2022
XXX Encuentro Nacional y XXI Iberoamericano de Investigación en Odontología

Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

A

2do LUGAR

AUTOR: HILLARY CAROLINA VAZQUEZ CANTÚ

CO AUTOR: ISMAEL JUÁREZ DÍAZ, ALEJANDRO MARTINEZ GUERRERO , ALEJANDRA PERAL GARCÍA, CRISTIAN DIONISIO ROMÁN MÉNDEZ, ALBERTO VINICIO JEREZANO DOMÍNGUEZ

Por haber sido ganador en la categoría **Clínica** de nivel **Maestría** con la presentación oral

"NEUROPLASTICIDAD EN LA CORTEZA DEL CÍNGULO ASOCIADOS AL DOLOR PULPAR."

en el marco del

XXX Encuentro Nacional y XXI Iberoamericano
de Investigación en Odontología

efectuado los días 9 · 10 y 11 de noviembre de 2022.

42111112214

Folio _____

"Por mi raza hablará el espíritu"
Ciudad Universitaria, 11 de noviembre de 2022.

Dr. Francisco Javier Marichi Rodríguez
Director
Facultad de Odontología, UNAM

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén
Presidente de la Sociedad Nacional
de Investigadores en Odontología, A.C.

La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A. C.

Otorga la siguiente

C O N S T A N C I A

a:

Vázquez Cantú Hillary Carolina, Juárez Díaz Ismael , Martínez Guerrero Alejandro, Jerezano Domínguez Alberto Vinicio, Moyaho Bernal María de los Ángeles, Casillas Santana Miguel.

por el trabajo en formato de presentación oral titulado:

Neuroplasticidad en la corteza anterior del cíngulo asociada a dolor pulpar

como parte del LXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.

17 al 21 de septiembre, 2023
Puebla, Pue.

Dra. Carmen Cortés
Presidenta

Dedicatoria:

A mi familia: Eliseo, Claudia, Bárbara, Emily, bebé Adam y mi gato Beni. Por y para ustedes, gracias por ayudarme a cumplir mis sueños.

Agradecimientos

A todo el equipo de trabajo del laboratorio de Fisiología de la Facultad de Estomatología BUAP, en especial a los pasantes de servicio social: Dianita, Denisse, Ari, Emanuel; a la dra. Edith Rodríguez, al dr. Josué Tello y en especial al dr. Ismael por la paciencia, apoyo, risas y regaños, gracias por creer en mí y brindarme su ayuda y asesoría en este proyecto.

A mis amigos; América, Andrea, Alex, Pablo, Baruch y Frank, quienes han sido un gran pilar para mi desde hace más de 10 años; gracias por nunca dejarme sola, por creer en mí, por sus palabras y motivaciones.

A mis compañeras de generación, Rox y Tania; sólo ustedes saben lo que nos costó llegar hasta este punto. Gracias los momentos de alegría compartida y también los momentos difíciles que hemos enfrentado juntas.

A mis docentes y compañeros/amigos de maestría, gracias a ustedes soy la persona que siempre aspiré ser. Gracias por impulsarme a ser una mejor versión de mi en el ámbito académico, personal, social y profesional.

A Jorge, gracias por estar a mi lado con amor y apoyo inquebrantables desde el principio.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), ya que, sin la beca brindada durante mi estancia en la maestría, este proyecto de investigación no se hubiera realizado. Número de beca: 1181773.

1. ÍNDICE

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS..... 12

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....14

INTRODUCCIÓN.....15

ANTECEDENTES GENERALES.....16

DOLOR.....16

PULPA DENTAL.....17

INERVACIÓN PULPAR.....17

INFLAMACIÓN PULPAR.....18

VÍA ASCENDENTE DEL DOLOR.....19

CORTEZA INSULAR.....20

VASCULARIZACIÓN.....21

FUNCIONES.....21

DOLOR EMOCIONAL.....22

NEURONAS VON ECONOMO.....23

ANSIEDAD DURANTE LA CONSULTA DENTAL.....24

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....24

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....27

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..... 27

JUSTIFICACIÓN.....27

HIPÓTESIS.....28

HI.....28

HO.....28

MATERIALES Y MÉTODOS.....29

DISEÑO DEL ESTUDIO.....29

UBICACIÓN ESPACIO – TEMPORAL.....29

ESTRATEGIA DE TRABAJO 29

MUESTREO 29

DEFINICIÓN DE UNIDAD DE POBLACIÓN 29

SELECCIÓN DE MUESTRA 30

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE NEURONAS, CRITERIOS DE INCLUSIÓN 30

DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO 30

TAMAÑO DE MUESTRA 30

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN 31

MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS 32

TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS 32

PREPARACIÓN DE ENDOTOXINA 32

PROCEDIMIENTO 33

OBTENCIÓN DEL TEJIDO NERVIOSO 36

TINCIÓN DE GOLGI-COX 37

IMPREGNACIÓN 38

ANÁLISIS MORFOLÓGICO NEURONAL 40

ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE SHOLL 41

ANÁLISIS DE DATOS 42

DISEÑO ESTADÍSTICO 42

BIOÉTICA 42

RESULTADOS 43

DISCUSIÓN 46

CONCLUSIÓN 55

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 56

ANEXOS 61

PLACA DE ANÁLISIS DE SHOLL 61

FORMATO DE CAPTURA DE DATOS EN EXCEL 61

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Fibras nerviosas presentes en pulpa dental……18
Figura 1. Neurona Von Economo.....23
Figura 2. Lipopolisacárido de *E. coli* O55:B5 (Sigma Aldrich) ….....34
Figura 3. Anestesia intraperitoneal……..34
Figura 4. Recuperación de biomodelos……...34
Figura 5. Apertura bucal del biomodelo……35
Figura 6. Comunicación con tejido pulpar……35
Figura 7. Inoculación de endotoxina……35
Figura 8a y 8b. Prueba de analgesia……36
Figura 9. Tejido nervioso……37
Figura 10. Tejido nervioso en solución de Golgi-Cox……38
Figura 11a. Solución de sacarosa al 30%.....38
Figura 11b. Vibratomo con tejido nervioso montado.……38
Figura 11c. Tejido nervioso seccionado. ……38
Figura 11d. Tejido nervioso fijado en laminillas. ……38
Figura 12. Laminillas con tejido nervioso en cámara húmeda. ……39
Figura 13.1. Hidróxido de amonio empleado. ……39
Figura 13.2. Concentrado de fijador Kodak. ……...39
Figura 13.3, 13.4, 13.5. Secuencia de líquidos empleados para el revelado…….39
Figura 14. Visualización del tejido nervioso al microscopio. ……40
Figura 15. Ubicación de corteza de interés……..41
Figura 16.1. Microfotografía de neurona von Economo teñida con tinción Golgi-Cox. ……43
Figura 16.2. Reproducción en dos dimensiones de neurona von Economo. ……43
Figura 17. Arborización dendrítica de neuronas von Economo entre ambos grupos de estudio. ……44
Gráfica 1. Longitud dendrítica por número de orden. ……..45
Gráfica 2. Longitud dendrítica total entre ambos grupos de estudio. ……45

Gráfica 3. Comparación del movimiento de la cola al estímulo térmico nocivo**...**……..46

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

IASP	Asociación Internacional para el Estudio del Dolor.
Aδ	A delta.
µm	Micras.
cGRP	Péptido relacionado al gen de la calcitonina.
Aβ	A beta.
LPS	Lipopolisacárido.
TLR4	Receptor tipo toll 4.
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa.
SNC	Sistema nervioso central.
IL	Interleucina.
MR	Resonancia magnética espectrostópica.
fMRI	Resonancia magnética funcional.
E. coli	*Escherichia coli.*
VEN	Neurona Von Economo.
BNDF	Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro.
et al.	Y otros.
CIFE	Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología.
CICUAL	Comité Institucional para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio.
NaCl	Cloruro de sodio.
ml	Mililitros.
gr	Gramos.
mg	Miligramos.
$K_2Cr_2O_7$	Dicromato de potasio.
$HgCl_2$	Cloruro de mercurio.
K_2CrO_4	Cromato de potasio.
SHAM	Control.
NADPH-p	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato.
aINS	Ínsula anterior.
pINS	Ínsula posterior.
ACC	Corteza anterior del cíngulo.
FI	Corteza fronto-insular.
s	Segundos.
TRPV	Receptores transitorios sensible a los vanilloides.

2. INTRODUCCIÓN

La IASP (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor) define el dolor como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con daño tisular real o potencial.[1] Durante décadas se ha encontrado difícil estudiar de manera cuantitativa el dolor, ya que éste es subjetivo; la experiencia dolorosa entre una persona u otra es distinta, sin embargo, se han desarrollado estudios en modelos animales para entender la percepción del dolor, el cuadro de desarrollo y cómo el organismo actúa ante éste.

La sociedad posee un lema en todos los idiomas: “los dientes no duelen”, pero, cuando éstos padecen algún malestar físico que interviene su día a día, los problemas recién comienzan. Se evita comer cosas frías, calientes, ciertas texturas en los alimentos, y poco a poco se modifica la calidad de vida. Un dicho conocido entre las madres mexicanas es “prefiero otro parto/cesárea a padecer un dolor dental”, el conocimiento sobre el impacto del dolor en la conducta e interacción social entre las personas es un campo virgen, desconocido.

La percepción de diferentes emociones como el miedo, ansiedad, estrés y depresión son controlados y manejados por el sistema límbico (cuerpo calloso, área septal, tálamo, hipotálamo, hipocampo y amígdala); se ha demostrado la sobre excitación neuronal de estas estructuras cuando hay un proceso inflamatorio en el cuerpo, pero, hasta el día de hoy, no hay evidencia científica sobre las repercusiones de la excitación neuronal en corteza insular asociado a inflamación pulpar y las repercusiones de éste en la conducta social; con este estudio se busca enriquecer la literatura actual y tener base científica para entender el papel del dolor dental a nivel neuronal, la sobre excitación posible de la corteza cerebral durante el evento de inflamación pulpar y cómo esta puede repercutir en el individuo en el ambiente social.

3. ANTECEDENTES GENERALES

Dolor

Hasta el día de hoy, a pesar de diversos estudios para entender el dolor, se tiene poco conocimiento de éste. Se ha definido como una sensación no placentera y un estado emocional, acompañado o no de un daño tisular; un fenómeno que causa la sensación física sufrimiento, ansiedad, depresión, pudiendo afectar la calidad de vida de la persona. La palabra dolor engloba un significado diferente en diversas áreas; en psicología se relaciona con ansiedad, depresión y estrés, en fisiología se describe como la sensación evocada después de un evento nocivo, resultado de la activación de nociceptores periféricos por la liberación de neurotransmisores en cualquier parte del cuerpo que termina en la corteza cerebral.[2]

El dolor se puede clasificar en:

1. **Dolor agudo.** Es el dolor que se desencadena después de un daño físico a cualquier tejido, la respuesta es moderada por nociceptores, sus conexiones centrales y el sistema nervioso autónomo; normalmente se describe como un dolor fuerte. Este tipo de dolor es común después de alguna intervención quirúrgica, trauma y enfermedades. **La principal característica es su durabilidad**, éste tiende a durar días a semanas, desaparece después de tratar y eliminar su factor etiológico.
2. **Dolor crónico.** Se menciona como un malestar que se evoca después de un daño físico que repercute a nivel de sistema nervioso central; en caso de existir una herida hacia un tejido, éste puede ser tan grave que el cuerpo es incapaz de curarse por sí misma. La percepción e intensidad de este dolor puede ser influenciado por experiencias pasadas del paciente. La diferencia de éste y el dolor agudo es la durabilidad, se considera que un dolor es crónico cuando sobrepasa los 3 meses de aparición.
3. **Dolor emocional.** Se describe a éste como la sensación desagradable sin relación a daño tisular, asociado o no a una experiencia previa no grata. [3]

Pulpa dental

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo, siendo uno de los tejidos inmensamente inervado (fibras A mielínicas y C amielínicas) y vascularizado en todo el cuerpo humano; cuenta con células únicas (odontoblastos), células formativas (fibroblastos) y células defensivas (macrófagos, mastocitos), éste se localiza en el centro del órgano dentario, recubierto por 3 tejidos duros (esmalte, dentina y cemento). [4]

Inervación pulpar

La pulpa dental se encuentra inervada por fibras mielínicas A y fibras amielínicas C, teniendo éstas su origen en el ganglio de Gasser del nervio trigémino. Éstas ingresan a través del foramen apical de las raíces dentales, ramificándose en todo el tejido pulpar. [5]

Fibras

Að

Se encuentran en la parte coronal pulpar, en la zona externa de los cuernos pulpares, donde se encuentra su mayor densidad; penetran los túbulos dentinarios a una profundidad de 150 a 200 µm y la conductividad del estímulo es alta. Se estimulan principalmente ante un estímulo hidrodinámico y la sensación que expresa es localizada, rápida, de corta duración.[6]

C amielínicas

Éstas son polimodales, se localizan en la zona rica en células, carecen de mielina y se activan al contacto de un estímulo nocivo térmico o a la presencia de sustancias como bradicinina, histamina, sustancia P y péptido relacionado al gen de la calcitonina (cGRP), a diferencia de las fibras tipo A, cuando éstas se encuentran ante un estímulo térmico, el dolor que se expresa es de tipo difuso y tardado; no responden a estímulo hidrodinámico.[7]

TIPO DE FIBRAS NERVIOSAS PRESENTES EN PULPA DENTAL

Tipo de fibras	Activación	Características
Mielínicas (20 – 25%) **1. Aβ (7%)** **2. Aδ (8.3%)** **3. Aδ lentas (10%)**	1. Vibraciones 2. Aire, frío y calor. 3. Mediadores inflamatorios.	Rápidas. Corta duración. Dolor agudo. Localizado
Amielínicas (75% - 80%) **1. Fibras C**	• Mediadores inflamatorios. • Cambios bruscos de temperatura. • Polimodales	Espontáneo. Dolor difuso. Pobremente localizado. Lento.

Tabla 1, traducida de: Yu CY, Abbott PV. Pulp microenvironment and mechanisms of pain arising from the dental pulp: From an endodontic perspective. Aust Endod J. 2018;44(2):82–98.

Inflamación pulpar

Se ha demostrado que la inflamación es un proceso degenerativo. Durante la inflamación, se da lugar a una serie de eventos; el brote de fibras aferentes e incremento de moduladores inflamatorios (liberación de neuropéptidos e inducción de la inflamación). El dolor no depende directamente del grado de inflamación, al contrario, se ha comprobado que, al comenzar el cuadro de inflamación en pulpa, ésta comienza a degenerarse a raíz de los eventos celulares. A nivel celular, en el momento que las toxinas bacterianas (LPS, ácido lipoteicoico) está en contacto con los odontoblastos, éstos lo reconocen por su receptor TLR4 y hay señalización de moléculas (quimiotaxis de células pro inflamatorias); se reclutan mastocitos, neutrófilos, macrófagos que se encuentran en el tejido pulpar, y éstos liberan mediadores de la inflamación (citocinas) causando quimiotaxis de células proinflamatorias, potencializando aún más su acción y otros eventos; hay presencia de bradicinina, histamina; estas, indirectamente, estimulan a las fibras amielínicas C, éstas segregan los neuropéptidos: sustancia P, cGRP y neuropéptido Y, éstos

viajan a través del axón de la fibra nerviosa en sentido antidrómico y afectando directamente a las vénulas y arteriolas pulpares al causarles vasodilatación, vasoconstricción causada por el neuropéptido y aumento en la temperatura, Los neutrófilos llegan a pulpa a través de torrente sanguíneo y, al acabar su corto tiempo de vida, liberan enzimas lisosomales, óxido nítrico y radicales libres que afectan al tejido pulpar.[8]

El cambio brusco de temperatura y de presión en la pulpa dental, causa inflamación, presión directa a las fibras sensitivas y, por ende, dolor. Si éste avanza, se presentan 2 signos clínicos:

1. Alodinia. Percepción de dolor tras un estímulo que normalmente no lo causaría, debido a una sensibilización de los receptores del dolor en la periferia.
2. Hiperalgesia. Sensación de dolor que es mayor de lo que normalmente debería ser, debido a la hipersensibilización del SNC. [9]

Vía ascendente del dolor

La región orofacial se encuentra inervada por el V par craneal (nervio trigémino); se ha descrito con anterioridad que, las fibras nerviosas peptidérgicas aferentes que inervan los órganos dentarios, se originan desde el ganglio de Gasser de este nervio. Al momento que existe una agresión nociva térmica, mecánica, biológica sobre las fibras nerviosas Að y C en el tejido pulpar, éste dará lugar a diversos potenciales de acción que viajan a través del axón de las fibras, éstas se conocen como neuronas de primer orden, las primeras en traducir el estímulo a una sensación, la información ingresa por la protuberancia y ahora se encuentra en SNC. Se recibe la información en núcleo espinal.[10]

El núcleo espinal del nervio trigeminal, a su vez, se subdivide en 3 secciones:

1. Subnúcleo oral.
2. Subnúcleo interpolar.
3. Subnúcleo caudal.

En esta última, se conoce como ***neurona de segundo orden***, recibe la información nociceptiva dolorosa desde los nociceptores primarios aferentes. Se da lugar a varios potenciales de acción y liberación de neurotransmisores en la hendidura postsináptica, de los cuales destaca el **glutamato** por parte de las fibras Að; una vez ocurrido, viaja desde el núcleo trigeminal a la extensión del tronco encefálico de la asta dorsal.[11]

La información asciende al tracto espinotalámico, ingresando al hipotálamo y tálamo, siendo aquí la neurona de tercer orden; se transmite la información hacia la corteza somatosensorial, se recibe el estímulo y se expresa dolor; la corteza puede identificar dónde y a qué intensidad se modera el dolor. El estímulo es percibido en sistema límbico, encargado de procesar emociones con base en experiencias físicas o subjetivas.[12]

Corteza insular

La corteza insular humana fue descrita por Johann-Cristian Reil en 1796, éste se localiza en lo profundo del surco de Silvio, delimitada desde los opérculos frontoparietal y temporal por el surco periinsular, dividiéndose en lóbulos posterior y anterior por el surco central insular.[13] En el lóbulo posterior se encuentran 2 circunvoluciones extensas y, en el lóbulo anterior, 3 circunvoluciones cortas, además de 1 giro accesorio que corresponde a la ubicación de la corteza frontoinsular. A su vez, ésta se clasifica, con base en sus conexiones, en:

- Ínsula posterior. Posee comunicación con áreas posteriores temporales, parietales, y sensoriomotor.
- Ínsula anterior. Estrechas conexiones con cíngulo anterior, frontal y orbitofrontal.
- Ínsula media. Comparte relación con cortezas insulares anterior y posterior.

Por las diversas funciones que éste desempeña, se propuso la siguiente subclasificación:

1. Ínsula media-posterior. Región sensoriomotora.
2. Centro insular. Región olfatoria-gustativa.

3. Ínsula antero-dorsal. Región cognitiva.
4. Ínsula antero-ventral. Región socioemocional

Vascularización

La aportación sanguínea que recibe la corteza insular proveída por el segmento medio de la arteria cerebral media, a través de venas que nacen desde la parte inferior de la ínsula, siguiendo el surco insular. La sangre venosa drena a la vena cerebral media profunda.[14]

Funciones

Interocepción

Se ha hipotetizado que la corteza insular posee un rol importante en la condición fisiológica del cuerpo mismo (interocepción); se ha reportado la activación de ésta cuando hay noción de sed, cansancio, aumento de ritmo cardiaco.[15]

Procesamiento emocional y social

La corteza insular se activa como resultado a actividades sociales con expresiones faciales y reconocimiento de voz. Durante experiencias de dolor físico y emocional, así como durante la empatía hacia el dolor de otros, la corteza insular anterior se activa juntamente con otras áreas somatosensoriales. Además, las alteraciones negativas en el estado afectivo pueden influir en la toma de decisiones y en la regulación del comportamiento social al modular la actividad de esta región cerebral.

Al resultarse algún daño o resección de la corteza insular puede resultar en la inhabilidad del reconocimiento facial, emociones y toma de decisiones.[15]

Funciones químico-sensoriales

Se piensa que la ínsula está involucrada en la intensidad, calidad, sabor del estímulo; sin embargo, a la localización precisa de la función gustativa en la corteza

insular es complicado, debido a que dicha región también se involucra en el procesamiento somatosensorial oral. [16, 17]

Por último, forma parte de una red denominada “matriz del dolor”, acompañado de otras estructuras anatómicas como cortezas somatosensoriales primarias y secundarias, cíngulo anterior, cortezas prefrontales, tálamo y cortezas cerebelares**.**[18, 19]

Dolor emocional

El dolor es un término multidimensional usado para clasificar las situaciones que enfrentamos, desde trauma físico o al sufrimiento psicológico de la vida, hasta el día no hay literatura que apoye la relación del dolor físico con el dolor emocional. Al hablar de dolor el primer pensamiento que se cruza es agresión física a un tejido, pero, el dolor emocional desencadena estados de ánimo desagradables: Incertidumbre, miedo, ansiedad, estrés. En la actualidad se ha desestimado la importancia del dolor emocional, ya que hay ausencia de daño físico, pero, debido a las circunstancias actuales a nivel internacional, es obligado comprenderle. El dolor físico se procesa a nivel de corteza cerebral, por parte del sistema nervioso central, después de sinfín de potenciales de acción y sinapsis a nivel de tálamo, amígdala, corteza cingular y corteza prefrontal (sistema límbico), interesantemente, existe evidencia sobre cambios bioquímicos en esas estructuras cuando hay tristeza y ansiedad; a su vez en esas estructuras como la corteza prefrontal, se procesa el dolor físico con base en experiencias subjetivas pasadas.[20]

Dragos y Talbot investigaron la influencia del estrés emocional y la actividad cerebral; demostrando que hay relación con el comportamiento suicida y niveles de IL-6, IL-8, IL-2, IL-10 y TNF-α, las mismas citocinas proinflamatorias que se segregan durante inflamación pulpar aguda y crónica.[21]

Neuronas von Economo

Mencionadas y descritas en 1925 por Constantin Alexander von Economo y George Koskias como células bipolares, con forma de huso o de varilla (resaltando su variación morfológica).[22] Éstas se caracterizan por su cuerpo delgado y elongado (más largas que las neuronas piramidales), proyecciones dendríticas desde terminales basales y apicales; se encuentran en la corteza fronto-insular y en la corteza anterior del cíngulo (con mayor densidad en elefantes, cetáceos y primates homínidos)[23]; sin embargo, con lo reportado en la literatura, los estudios sobre cuál es la función específica de estas neuronas son escasos, debido a que aún no se sabe con claridad cuál es su función específica pero, por estar ubicadas en cortezas encargadas del proceso de emociones, se hipotetiza que cumplen un papel en la integración de emociones (armonización social, equilibrio emocional), comportamientos basados en entornos sociales diferentes. Se ha reportado que un daño en las cortezas previamente o alguna enfermedad neuropsiquiátrica puede causar una destrucción o degeneración de las neuronas von Economo y, a su vez, puede causar una reducción en la sensación del dolor, empatía o conciencia de la emoción.[24]

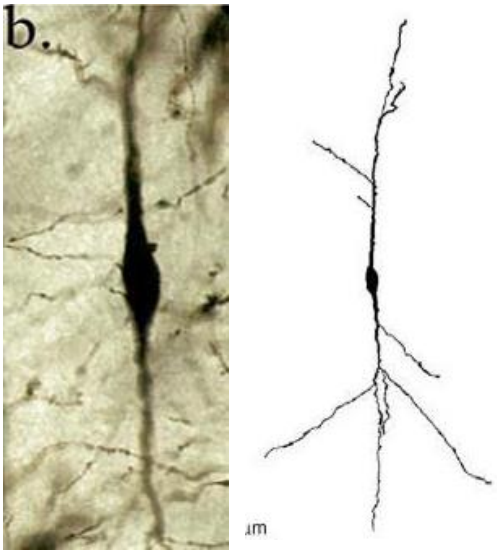


Figura 1. Microfotografía de neurona Von Economo, nótese la forma del soma. Reproducción en digital de la misma neurona. Imágenes tomadas de Watson *et al*. Dendritic architecture of the von Economo neurons. Neuroscience. 2006;141(3):1107-12.

Ansiedad durante la consulta dental

La ansiedad y miedo son las razones principales de posponer la consulta dental, lo que conlleva a una salud bucal pobre y reducida calidad de vida, el hecho de pensar en la anestesia, el ruido de la pieza de alta, ultrasonido, la etiología del dolor dental puede pasar desapercibida a causa de esto. Klingberg y Broberg describieron por primera vez la ansiedad dental como un estado de aprensión, pensar en lo peor y que algo malo ocurriría durante la consulta dental; la ansiedad es más evidente después de tener experiencias pasadas.[25]

El estado de ansiedad dental se desarrolla en el cerebro, en particular en la corteza insular. Se ha demostrado la relación con la hiper actividad de corteza insular durante el proceso del estímulo del tratamiento o la ansiedad dental ruidos o videos de la pieza dental de mano, además, cabe resaltar que ésta tiene relación con el procesamiento afectivo, en especial el disgusto; y, por lo tanto, la correlación entre la sensación desagradable y el miedo.

3. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Hay diversos estudios donde evaluaron la activación de la corteza cerebral ante estímulos dolorosos en diferentes partes del cuerpo, pero, *Jantsch et al.*[26], en el año 2005, evaluaron la activación de la corteza cerebral ante un estímulo doloroso experimental en tejido pulpar humano, con la hipótesis que, debido a que, la estimulación no nociva dental provoca activación bilateral de la corteza insular. Los estímulos se realizaron a través de descargas eléctricas a frecuencia de 5 Hz, lo suficiente para activar a fibras Aδ y fibras C amielínicas para percibir la sensación. Analizaron los cambios mediante imágenes por resonancia magnética funcional (fMRI) y, observaron actividad incrementada causado por dolor dental en las áreas anterior, media y posterior de la corteza insular izquierda, en la corteza insular derecha sólo se observó en la parte media, concluyeron que el dolor dental activa la red cortical.

Años posteriores, Gustin *et al*.[27] el 2011 realizaron un estudio, encontrando que, la materia gris insular anterior se redujo y, a su vez, éste aumentó en zona posterior insular en pacientes con dolor neuropático trigeminal. Gracias a sus hallazgos se infirió que el dolor neuropático puede inducir cambios en la morfología, densidad y volumen de la corteza insular, y que éstos pueden afectar y variar en diferentes regiones de ésta.

Los estudios de Gutzeit *et al*.[28] 2011 demostraron las respuestas específicas de la corteza insular debido al dolor dental. Determinaron si el dolor dental incita a cambios cuantitativos de las sustancias cerebrales en corteza insular después de la estimulación. Indujeron sensaciones dolorosas eléctricas en dientes caninos humanos por 15 minutos, se estimó la intensidad del dolor a través de una escala análoga, por último, se valoraron los cambios de neurotransmisores en la corteza insular izquierda a través de resonancia magnética espectroscópica (MR); Se documentó el aumento de glutamina (+55.1%), glutamina/glutamato (+16.4%) y mioinositol (-9.7%) durante la inducción del dolor en pacientes sanos. Establecieron la relación estrecha del dolor agudo dental y la sintetización de éste a nivel molecular.

La ex alumna de maestría, Paulina Aguirre (datos no publicados), presentó los cambios morfológicos en neuronas de la corteza anterior del cíngulo inducidos por estímulo nocivo por exposición de tejido pulpar e inducción de lipopolisacárido (*Escherichia coli*) en roedores, se eutanizaron y se obtuvieron los tejidos nerviosos de éstos. Realizó tinción de Golgi-Cox y se analizó, a través del microscopio, la morfología de las espinas dendríticas neuronales. Demostró que, después de la exposición pulpar e inducción del LPS, hubo mayor arborización de longitud dendrítica de las neuronas de diversos órdenes.[29]

Ese mismo año, otro ex alumno de maestría, Alfredo Luna (datos no publicados), estudió los cambios en la densidad de espinas dendríticas y la plasticidad neuronal en dolor inducido por estímulo nocivo en tejido pulpar en roedores mediante la comunicación a dicho tejido pulpar y la inducción de una endotoxina (lipopolisacárido), eutanizó a los roedores y obtuvo el tejido nervioso de éste.

Mediante la tinción de Golgi-Cox y la visualización directa de éste al microscopio, encontró 2 formas de espinas dendríticas (forma filopodio y copa) posterior al estímulo nocivo y una constante en la densidad de espinas en neuronas de diversos órdenes. [30]

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La literatura sugiere que la corteza insular juega un rol en la toma de decisiones con base en experiencias subjetivas emocionales, en este caso dolor; sin embargo, existe poca evidencia sobre la influencia del dolor causado por inflamación pulpar que se asocie con la función de la corteza insular, que es parte del circuito límbico.

Por lo que el principal objetivo del presente proyecto es generar evidencia de cambios morfológicos en las neuronas de Von Economo (VEN), las cuales son células grandes y bipolares que se encuentran en la corteza fronto-insular y la asociación del dolor dental. Para lo cual se reproduce el modelo de Tarsa *et al.*[31], en donde se muestra que, a los animales (de 28 días de edad) a los cuales se les realizó comunicación pulpar, expresan un incremento de Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BNDF) en el ganglio trigeminal. Se investigará la asociación entre nocicepción por inflamación y neuroplasticidad de la corteza insular. Esto repercutirá en una mejor atención de los profesionales del área a sus pacientes.

Pregunta de investigación

¿La inflamación pulpar induce cambios morfológicos de las neuronas de Von Economo (VEN) en corteza insular?

5. JUSTIFICACIÓN

La corteza insular posee diversas funciones, de las cuales destaca la asociación entre percepción y emoción. Gracias a esta región cerebral, sabemos interpretar la parte afectiva hacia un sentir según nuestro estado corporal; además de estar implicada en procesos emocionales como amor, felicidad, miedo, **tristeza, ansiedad, dolor (sensaciones asociadas a la consulta dental)** entre otros. Existen diversos estudios que asocian la activación de la corteza insular ante estímulos emocionales asociados a dolor; el dolor pulpar causado por inflamación es el principal motivo de consulta en endodoncia. A pesar de la creciente comprensión del dolor pulpar y su impacto en el sistema nervioso central, los mecanismos subyacentes en la corteza insular siguen siendo poco estudiados.

6. HIPÓTESIS

Hipótesis científica

Los estímulos nocivos en la pulpa dental, que desencadenan un proceso de inflamación, inducen cambios morfológicos en las neuronas Von Economo (VEN) en la corteza insular.

Hipótesis nula

Los estímulos nocivos en la pulpa dental, que desencadenan un proceso de inflamación, no inducen cambios morfológicos en las neuronas Von Economo (VEN) en la corteza insular.

7. OBJETIVO GENERAL

Examinar los cambios morfológicos de las neuronas Von Economo de la corteza insular para encontrar una posible correlación con un proceso inflamatorio en la pulpa dental.

8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Reproducir el modelo de comunicación pulpar en el primer molar unilateral en rata.
2. Evaluar la sensibilidad del tejido periférico ante estímulos nociceptivos.
3. Disección de tejido nervioso para fijarlo en fresco.
4. Revelar las muestras con la técnica de tinción negra de Golgi-Cox.
5. Analizar el árbol dendrítico y la morfología de las neuronas Von Economo.

9. MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

- Analítico, prospectivo *ex -vivo.*

UBICACIÓN ESPACIOTEMPORAL

- Bioterio Central de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla “Claude Bernard”
- Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Estomatología BUAP.

ESTRATEGIA DE TRABAJO

1. Utilización de un biomodelo (ratas Sprague Dawley) para investigar la neuroplasticidad causada por la administración de LPS en la pulpa dental.
2. Provocación de un estímulo doloroso en la pulpa dental en biomodelos experimentales.
3. Aplicación de la técnica de tinción negra de Golgi-Cox para la coloración del tejido neuronal.
4. Captura de microfotografías de las neuronas y reproducción bidimensional en hojas de papel, mediante el uso de una cámara lúcida.
5. Evaluación de los datos sobre la morfología neuronal, utilizando el método de análisis de Sholl. Interpretación y discusión de los resultados obtenidos.

MUESTREO

DEFINICIÓN DE LA UNIDAD DE POBLACIÓN

- Neuronas en el núcleo de interés de los roedores (corteza insular).
- Ratas de la cepa Sprague-Dawley del bioterio central de la BUAP “Claude Bernard”.

SELECCIÓN DE LA MUESTRA

CRITERIO DE SELECCIÓN DE LAS UNIDADES DE MUESTREO

Se empleó el siguiente criterio de selección con base en la estandarización usada por Tarsa *et al*.[31]

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Roedores macho de la cepa Sprague-Dawley de 28 días de edad, con un rango de peso de 40 – 100 gr.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Ratas de menor peso de 40 gr.
- Ratas que no cumplan con el rango de edad.

CRITERIO DE SELECCIÓN DE NEURONAS

- Neuronas con tinción adecuada.
- Neuronas completas, con morfología sin interrumpir.
- Neuronas lo pertinentemente aisladas para poder dibujarlas a través de una cámara lucida.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Otra clase de neuronas de diferentes estructuras del sistema límbico.
- Neuronas sin continuidad (fragmentada).

DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO

- Muestreo aleatorio simple.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

- Población finita de 200 neuronas de 20 ratas.
- Ratas macho cepa Sprague-Dawley del biotero “Claude Bernard”.

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CATEGORÍA	ESCALA DE MEDICIÓN	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
Longitud en dendritas	Desarrollo de las ramificaciones protoplásmicas que se inician en el cuerpo celular de la neurona.	Determinar la extensión de las dendritas en intervalos de 10 micras.	Cuantitativa discreta, dependiente.	Número de anillos (en micras) que cada dendrita cruza, según el análisis de Sholl.	Estadística descripitiva, *T* de Student.
Árbol neuronal	Número de ramificaciones protoplásmicas que se originan de cada soma neuronal.	Examinar mediante el análisis morfológico de Sholl en la ramificación de las dendritas	Cuantitativa discreta dependiente.	Cantidad de veces que se observa una disposición dendrítica particular en relación con cada anillo en la lámina de Sholl.	Estadística descriptiva, *T* de Student.
Estímulo nocivo	Estímulo externo capaz de inducir daño y activar receptores de dolor.	Causar dolor mediante la exposición de la pulpa y la aplicación de LPS.	Nominal dicotómica independiente.	SI/NO.	Estadística descriptiva, T de Student.
Algesia	Sensación de dolor que se experimenta en respuesta a un estímulo.	Medir con un cronómetro el tiempo que tarda el animal en retirar la cola del estímulo térmico (prueba de analgesia).	Continua, cuantitativa.	Cantidad de tiempo que toma el roedor para retirar la cola ante estímulo nociceptivo (en segundos).	Estadística descriptiva, T de Student.

MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Prospectivo.

MÉTODOS, ESTRATEGIAS Y RECURSOS DE RECOLECCIÓN

Se sometió el protocolo de investigación previamente autorizado por parte de CIFE BUAP al CICUAL (Cuidado y uso de animales de laboratorio) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; donde se especificaron la especie de los biomodelos (20 ratas macho cepa Sprague – Dawley), los objetivos del estudio y el protocolo a seguir del proyecto. Todos los procedimientos descritos en el presente estudio fueron aprobados por el Comité de Cuidado Animal de la BUAP y las líneas gubernamentales (Norma Oficial Mexicana NOM-062-zoo-1999). De acuerdo con los lineamientos establecidos por parte del CICUAL, para poder realizar un proyecto que implique animales de laboratorio, se tomó el curso denominado “Manejo y vías de administración en rata de laboratorio” en el Bioterio “Claude Bernard” de BUAP, donde se estandarizó al equipo de trabajo, para el manejo correcto de los biomodelos a emplear.

Una vez obtenidos los biomodelos de cepa Sprague-Dawley, éstos se prepararon con ayuno de **12 horas previas**, se aleatorizó la asignación de los roedores a **grupo experimental (n=10)** y **grupo control (n=10).**

Preparación de endotoxina

Se obtuvo la endotoxina *E. coli* O55:B5. L2880 – 25 MG (Sigma Aldrich) y ésta fue pesada en una balanza analítica para obtener 22 mg y se disolvieron en solución de 0.9% NaCl en un Vortex (figura 2).

Procedimiento

Se administró el anestésico para roedores (Ketamina/Xilacina) a una dosis de 0.2 ml/100 mg de peso corporal por vía intraperitoneal, siguiendo una secuencia numerada del 1 al 10 previamente marcada (figura 3). Una vez alcanzado el efecto deseado, los animales del grupo control fueron colocados en una cama térmica para su recuperación (figura 4); mientras que, al grupo experimental, se le procedió con la apertura bucal (figura 5) e identificación del primer molar superior. Posteriormente, se realizó la comunicación pulpar utilizando una pieza de mano dental de alta velocidad (W&H, Austria) y una fresa dental de ¼ de bola de carburo con acceso oclusal (SS White, EUA) (figura 6). Después de verificar el procedimiento, se administró LPS de *E. coli* en una dosis de 25 mg disueltos en 0,9% NaCl en el tejido pulpar de los primeros molares izquierdos del grupo experimental. (figura 7), los cuales fueron posteriormente obturados con teflón (Truper, CDMX, México). La técnica de trabajo se realizó a 4 manos para el cuidado y la conservación de tejidos blandos. Después del procedimiento quirúrgico, se esperó la recuperación total de los animales para ser devueltos al bioterio.

Los roedores, tanto del grupo experimental como el grupo control, fueron pesados 3 veces a la semana durante 28 días. Después de este período, se llevó a cabo la **prueba de analgesia,** utilizando la técnica de movimiento de la cola (figura 8a y 8b).

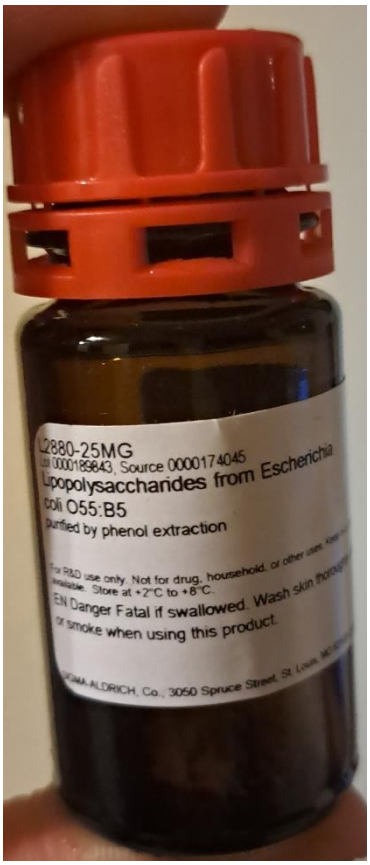


Figura 2. Lipopolisacárido de Escherichia coli O55:B5 (fuente propia).

Figura 3. Anestesia intraperitoneal (fuente propia).

Figura 4. Biomodelos en recuperación (fuente propia).

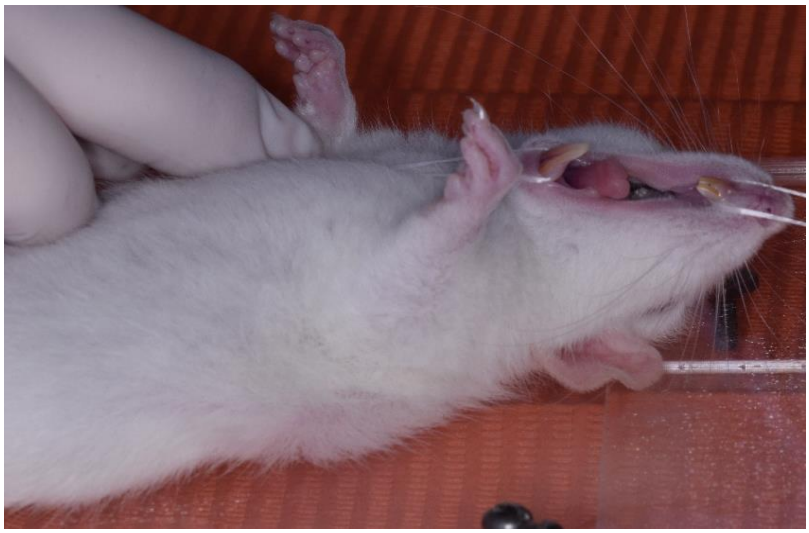


Figura 5. Aoertura bucal e identificación de primer molar superior izquierdo (fuente propia).

Figura 6. Comunicación con el tejido pulpar (fuente propia).

Figura 7. Inoculación de endotoxina hacia el tejido pulpar (fuente propia).

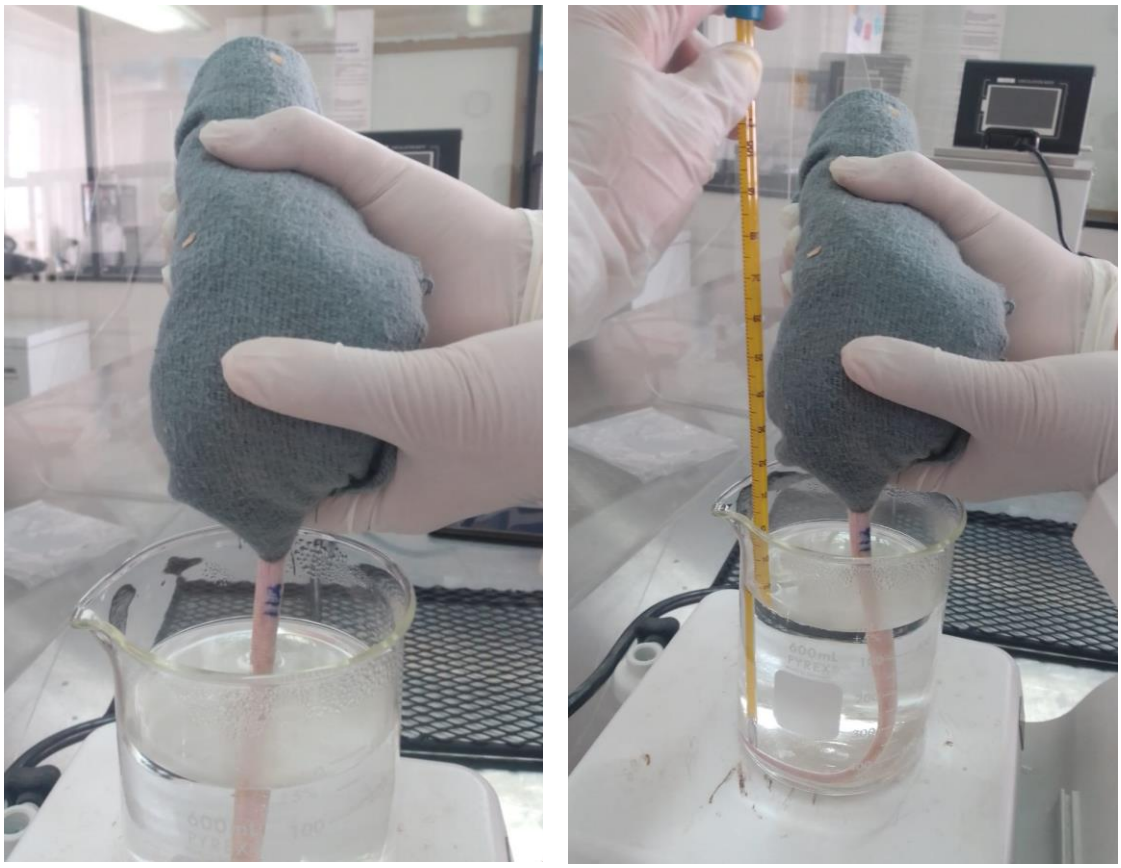


Figura 8a, 8b. Prueba de analgesia mediante movimiento de cola (flip tail test) (fotografías cortesía: L.E. Edith Rodríguez).

OBTENCIÓN DEL TEJIDO NERVIOSO

a) Se administró una sobredosis de Ketamina-Xilacina a los biomodelos.

b) Se efectuó perfusión con solución de NaCl al 0.9% por medio del ventrículo izquierdo para limpiar el tejido nervioso de sangre y se facilitó su drenaje mediante un corte en la aurícula derecha.

c) Se luxó el cráneo del biomodelo y se obtuvo el tejido nervioso (figura 9).

d) Los cerebros fueron removidos y posteriormente se fijaron en 20 ml de solución de Golgi-Cox (figura 10).

Figura 9. Tejido nervioso (fuente propia).

Figura 10. Cerebro en solución de Golgi-Cox (fotografía cortesía de: L..E Edith Rodríguez).

TINCIÓN DE GOLGI-COX

Camilo Golgi ideó un método para impregnar células nerviosas que sigue siendo fundamental en el ámbito de la descripción morfofuncional del sistema nervioso. Este método permite la impregnación selectiva de células nerviosas y sus prolongaciones mediante el uso de una reacción con nitrato de plata y dicromato de

potasio o de sodio. La técnica de Golgi-Cox representa un procedimiento histológico simple que revela la morfología neuronal completa en tres dimensiones.[32]

Dicho pigmento negro está compuesto por:

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

IMPREGNACIÓN

El tejido nervioso se mantuvo en total oscuridad durante 2 semanas, después se cambió por una solución de sacarosa al 30% (figura 11a) y se almacenó una vez más en la oscuridad por 5 días más. El tejido se limpió y se montó en la platina del vibratomo motorizado modelo MA752, y se sumergió en una solución de sacarosa a una temperatura de 40ºC hasta cubrir el tejido (figura 11b). Se seccionó el tejido en orientación coronal de cada hemisferio con un grosor de 200 µm y se fijó en laminillas previamente gelatinizadas al 2% bajo presión. (figuras 11c y 11d).

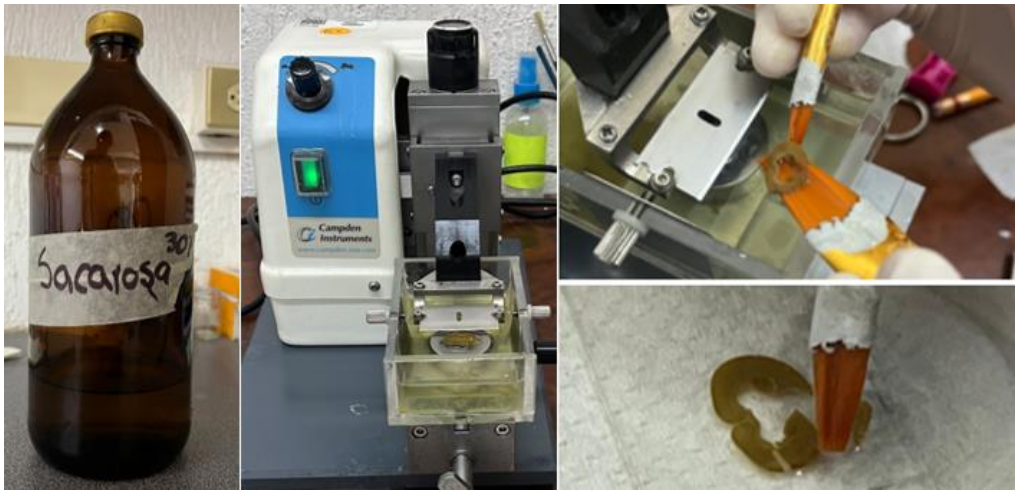


Figura 11a. Solución de sacarosa al 30%.
11b. Vibratomo con tejido nervioso montado.
11c. Tejido nervioso seccionado.
11d. Tejido nervioso fijado en laminillas previamente gelatinizadas.

Las laminillas se dejaron en una cámara húmeda y se revelaron conforme a este orden (figura 12):

1. Lavado con agua destilada por 1 minuto.
2. Sumersión en hidróxido de amonio durante 30 minutos (figura 13.1).
3. Enjuague con agua destilada por 1 minuto.
4. Fijación en fijador Kodak ® al 50% en un lapso de 30 minutos (figura 13.2).
5. Lavado con agua destilada por 1 minuto (figura 13.3).
6. Deshidratación de tejido con concentraciones crecientes de etanol, 70 y 95% (60 segundos en cada uno), para finalizar con 5 minutos en alcohol absoluto (2 veces) (figura 13.4).
7. Sumersión del tejido en xileno por 15 minutos (figura 13.5).
8. Se recubrieron las láminas con tejido con resina sintética (al 60% en xilol, marca Hycel)

Por último, se resguardaron las laminillas en oscuridad para su secado.

Figura 12. Laminillas con tejido nervioso en cámara húmeda.

13.1. Hidróxido de amonio empleado.

Figura 13.2. Concentrado del fijador Kodak©.

Figura 13.3, 13.4 y 13.5 Secuencia de líquidos empleados para revelar y fijar el tejido nervioso.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO NEURONAL

En 1998, Kolb sugirió los siguientes estándares para seleccionar neuronas con el fin de representarlas y examinarlas.[33]

- La neurona debe hallarse bien pigmentada.
- La neurona debe encontrarse completa.
- La neurona debe estar aislada para poder distinguir con claridad las dendritas emergentes del soma.
- Se escogieron 10 neuronas, para realizar la reconstrucción bidimensional y visualizar el núcleo de interés, y se empleó el microscopio Leica, ICC50 y cámara lúcida. (figura 14 y 15).

Figura 14. Visualización del núcleo de interés mediante microscopio (fuente propia).

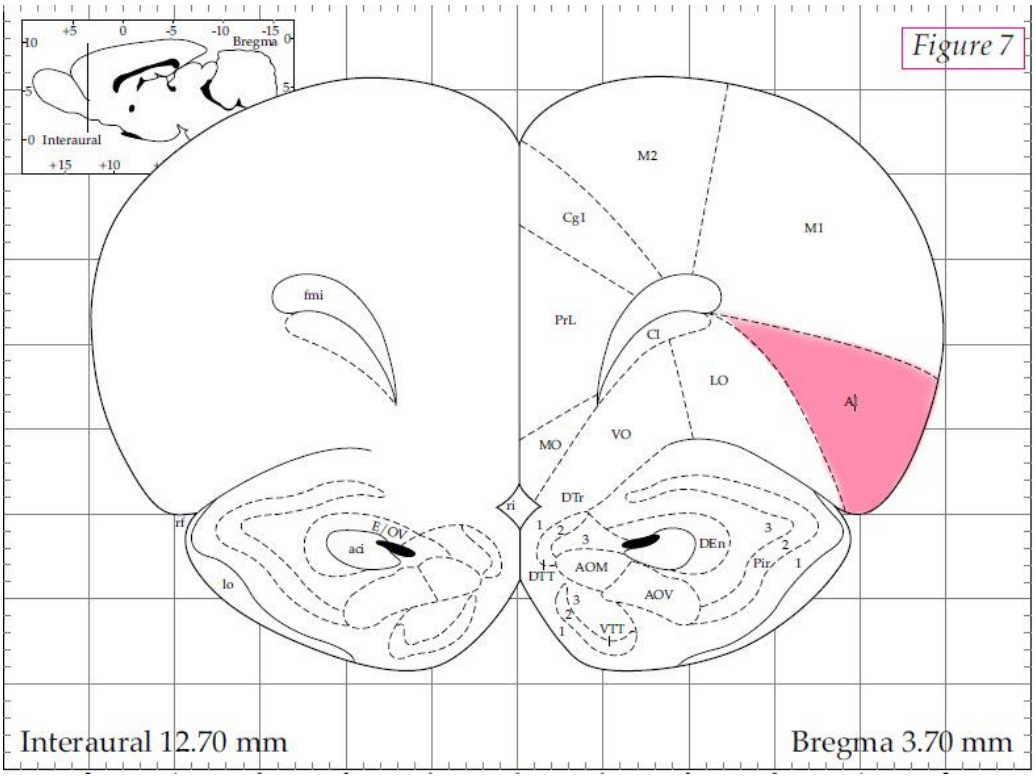


Figura 15. Localización de corteza de interés. Imagen tomada y modificada de Paxinos y Watson (1997).

ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE SHOLL

Ya obtenidas las reproducciones bidimensionales de las neuronas, éstas fueron analizadas con el método de Sholl [34, 35], el cual consta de:

1. Sobre posicionar una placa transparente con una serie de círculos concéntricos,equivalente de 10 µm de separación y serán colocadas sobre el dibujo.
2. La longitud dendrítica total se estimará por el número de círculos que intercepte cada dendrita.
3. Arborización dendrítica: se empleó la metodología de marcado por colores de las dendritas conforme a sus bifurcaciones (técnica propuesta por Flores y Juárez), lo que permite la identificación del número total de ramificaciones dendríticas distanciados del soma neuronal, incluyendo primer, segundo, tercer, cuarto y quinto orden.

ANÁLISIS DE DATOS

Ya contando con los resultados del análisis morfológico de Sholl, éstos se recopilaron por medio de una tabla de cálculo diseñada en Microsoft Excel, posteriormente se capturaron en el programa GraphPad Prism, para presentar los resultados graficados.

DISEÑO ESTADÍSTICO

Prueba estadística

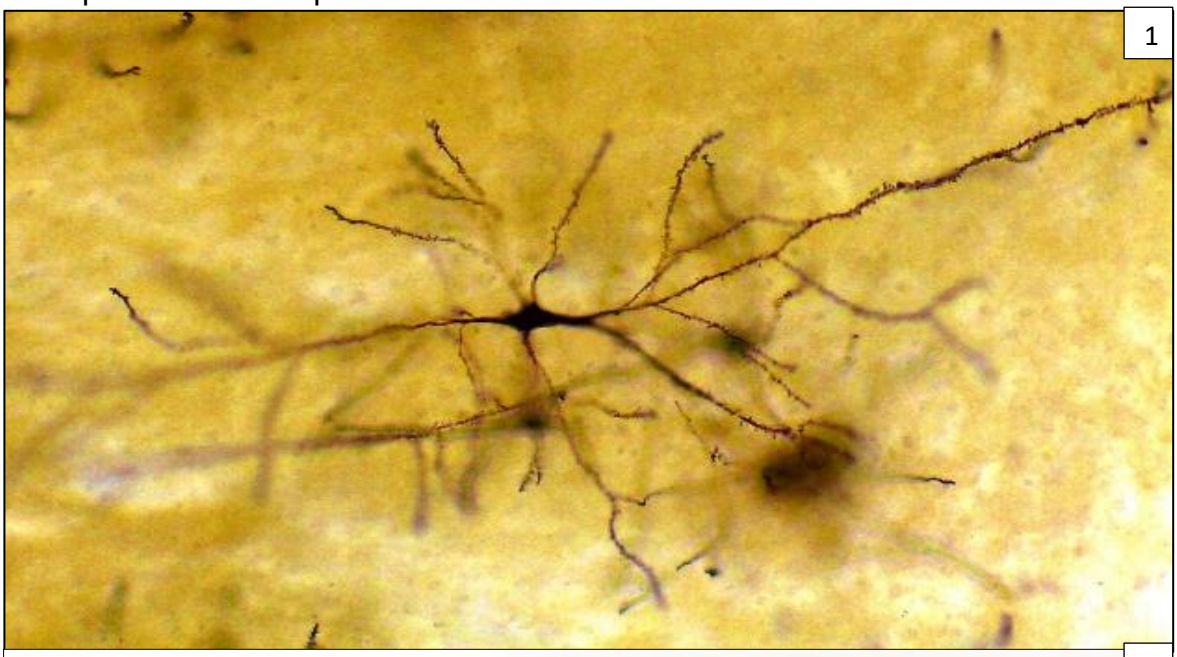
- Prueba T de Student para grupos independientes, para las variables de longitud dendrítica, arborización y algesia.

BIOÉTICA

- Norma Oficial Mexicana NOM-062-zoo-1999.
- Norma NOM-087-ECOL-94
- Ley General del Equilibrio ecológico y la Protección al Ambiente.

10. RESULTADOS

A continuación, se muestra la representación en tres dimensiones de una neurona von Economo hallada en la corteza insular de un modelo Sprague-Dawley perteneciente al grupo de control de este estudio, acompañada de su representación en dos dimensiones.



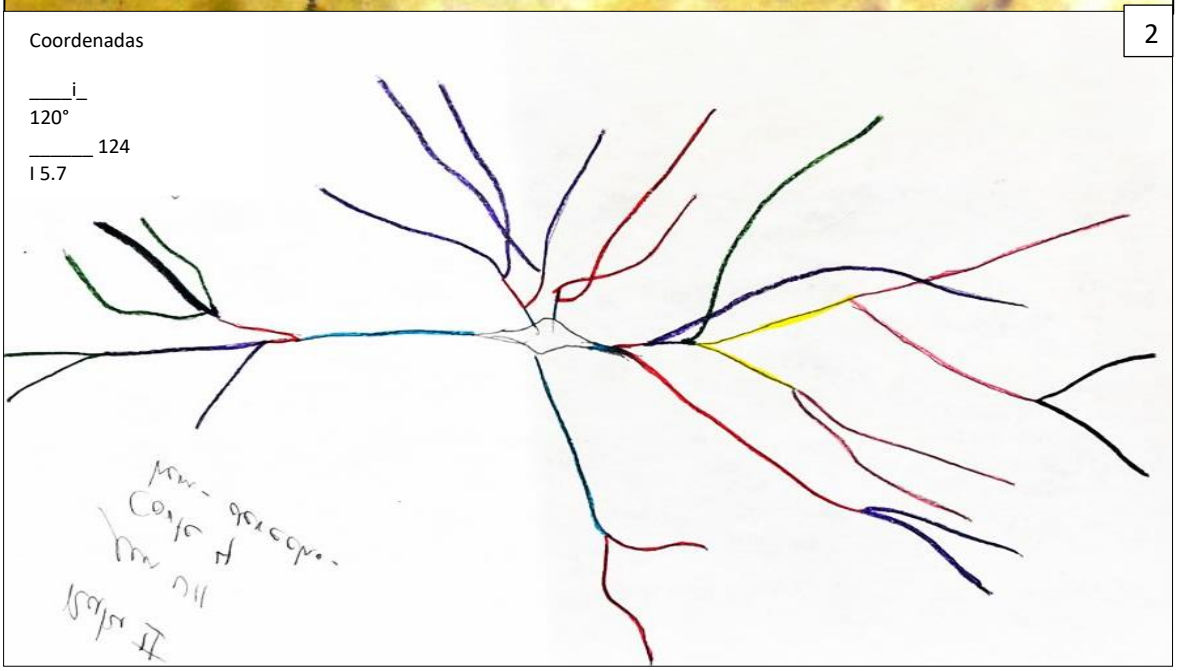


Figura 16.1 Microfotografía obtenida a través del microscop LEICA ICC50. Neurona von Economo localizada en la corteza insular del roedor II, grupo CONTROL. Laminilla VII corte 4 hemisferio derecho. Tinción negra de Golgi-Cox.
Figura 16.2 Reproducción en 2 dimensiones de la neurona von Economo previamente identificada. Nótese la codificación en colores de los órdenes dendríticos en relación con su bifurcación.

Se examinaron 200 neuronas obtenidas de 20 ratas, las cuales fueron distribuidas al azar en dos grupos de estudio (**SHAM y LPS-PULPA**). Los biomodelos del grupo experimental (**LPS-PULPA**) fueron expuestos a un estímulo nocivo en la pulpa dental.

Arborización dendrítica

Se compararon las medias entre ambos grupos de estudio; empleando la prueba de T de Student con un nivel de confianza del 95%, los resultados indicaron un **aumento en la ramificación dendrítica de las neuronas Von Economo en la región cercana al soma celular**.

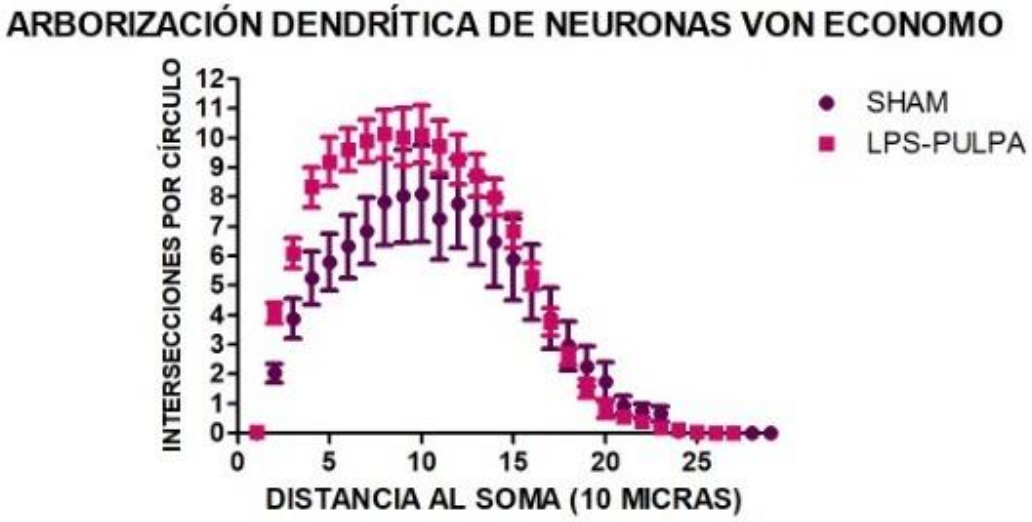
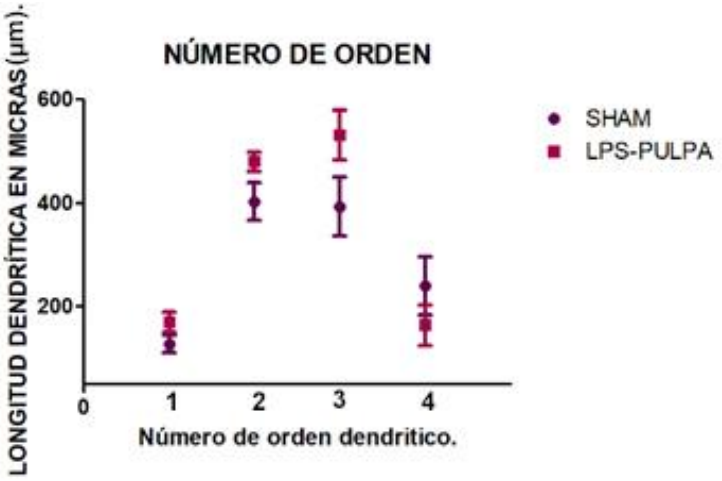


Figura 17. Se presentan los datos de arborización y su desviación estándar. Se observaron diferencias significativas (p=0.0458) entre el grupo LPS-PULPA, representado en rosa, y el grupo SHAM, representado en morado (fuente propia).

Número de orden

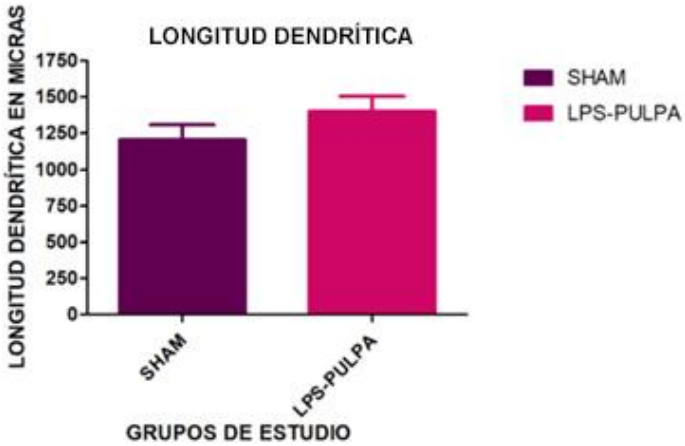
Al realizar el análisis de la longitud dendrítica conforme al orden, se encontraron cambios en los segmentos 2 y 3; demostrando que los segmentos de las neuronas analizadas del grupo **LPS-PULPA *incrementaron* su longitud dendrítica con respecto al grupo SHAM.**



Gráfica 1. Análisis de la longitud dendrítica por número de orden, donde se observa una diferencia estadísticamente significativa en los segmentos 2 y 3. (p= 0.013) (fuente propia).

Longitud total

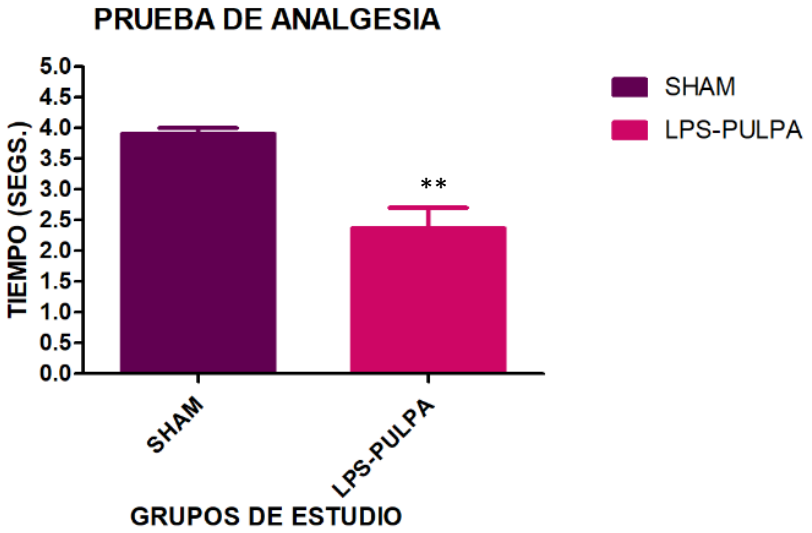
Se observa que, al contrastar la longitud total de las neuronas entre ambos grupos, **no se evidencia una disparidad estadísticamente significativa**.



Gráfica 2. Comparación de la longitud total de las neuronas de ambos grupos; no se muestran un cambio estadísticamente significativo (p=0.2043) (fuente propia).

Prueba de analgesia

Se muestran los resultados de *algesia*, la cual fue evaluada con la técnica de movimiento de cola (tail flick test), al graficar y realizar la prueba de T-student, se demostró que el grupo **LPS-PULPA** presentó una latencia menor para retirar la cola del estímulo nociceptivo comparado con el grupo SHAM.



Gráfica 3. Comparación del movimiento de la cola al estímulo térmico nocivo; se muestran un cambio estadísticamente significativo (p= 0.0057) (fuente propia).

11. DISCUSIÓN

El dolor es una sensación reconocible común tanto en humanos como en animales, pero su origen es un proceso complejo que implica la integración de experiencias emocionales y sensoriales, así como información nociceptiva percibida por diversas áreas cerebrales. La percepción del dolor es un proceso que implica la actividad de una red de áreas corticales y subcorticales conocida como la red neuronal del dolor. Esta red incluye estructuras como el tálamo, la corteza somatosensorial primaria y secundaria, la corteza anterior del cíngulo, la ínsula y el prosencéfalo. Se ha planteado que la red neuronal del dolor puede estar dividida en **un sistema lateral,** involucrado en la percepción de los aspectos sensoriales del dolor, y un sistema donde se procesan los componentes afectivos de la experiencia del dolor.[36] La

corteza insular es una estructura anatómica compleja y altamente inervada que recibe proyecciones aferentes del tálamo. Esta estructura participa en **un sistema afectivo del dolor**, junto con la amígdala del sistema límbico y áreas corticales asociadas, **facilitando la integración de información sensorial y emocional**.[37, 38], la IASP (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor) define el dolor como una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con daño tisular real o potencial[1]; el daño causado por un proceso carioso en un órgano dentario y éste llegue al tejido pulpar, puede desencadenar una experiencia sensorial y emocional adversa. La pulpa dental es un tejido conectivo altamente inervado y vascularizado, rodeado de tejido duro para su protección (esmalte y dentina), éste puede llegar a destruirse gracias a la caries, una enfermedad dinámica, multifactorial (causada primariamente por bacterias) que resulta en la desmineralización de los tejidos duros, si las bacterias y sus productos llegan a tocar al tejido pulpar, desencadenan un proceso de inflamación pulpar y a su vez, dolor pulpar, ya que causan cambios en los mediadores inflamatorios.[39]

En la pulpa dental humana se identifican dos tipos de terminaciones nerviosas: las fibras Aδ y tipo C. Los cuerpos celulares de estas fibras se localizan en la asta dorsal de la médula espinal, donde liberan neurotransmisores excitadores como glutamato, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina y otros péptidos; estas fibras se conocen como neuronas de primer orden, ya que son las primeras en traducir el estímulo en una sensación. La información ingresada por estas fibras llega a la protuberancia y luego al sistema nervioso central (SNC). La información es recibida en el núcleo espinal del nervio trigémino y se recibe subnúcleo caudal, donde se encuentran las neuronas de segundo orden, las cuales reciben la información nociceptiva dolorosa proveniente de los nociceptores primarios aferentes. Los aferentes primarios establecen sinapsis con neuronas nociceptivas específicas y penetran en el sistema nervioso central a través de la comisura ventral, ascendiendo luego por el tracto espino talámico lateral hasta alcanzar los núcleos posterolaterales ventrales del tálamo. Los tractos espinoreticulares transportan la información dolorosa, mientras que la proyección supraespinal involucra estructuras

como la corteza anterior del cíngulo, **la corteza insular**, la corteza somatosensorial primaria y secundaria, así como el núcleo accumbens.[40]

El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en la morfología de las neuronas von Economo en la corteza insular después de someter un estímulo nocivo a la pulpa dental. Para ello, se aplicó un estímulo nocivo en la pulpa dental de un biomodelo (rata Sprague Dawley), empleando la inoculación de una endotoxina (LPS de *E. coli*). Brodzikowska *et al*.[41] desglosan en una revisión sistemática que, dependiendo el enfoque del estudio, es el tipo de endotoxina que se puede emplear, en el caso de inflamación pulpar, reportan el uso de LPS de ***E. coli* O55:B5** y cómo éste pudo inducir a las células similares a odontoblastos a la liberación citocinas y quimiocinas inflamatorias; con base en estos hallazgos, **se demostró que se causó un estímulo nocivo pulpar causada por una endotoxina bacteriana.** Una vez que los animales se recuperaron de la anestesia general y se observó que la intervención no dificultó su capacidad de hidratarse y alimentarse, estos fueron alojados en el bioterio. Transcurrido el tiempo experimental, se permitió que hubiera una respuesta inflamatoria por activación inmunológica ante la endotoxina y los biomodelos mostraran signos de dolor como la presencia de pelo erizado, aislamiento, conducta agresiva y morderse la cola; para lo cual, durante todo el tiempo que duro el experimento, se acudió a observar a los biomodelos y se pesaron cada tercer día para evitar sufrimiento animal innecesario y evitar que sufrieran de pérdida de peso a causa del dolor dental; la principal preocupación fue saber si el estímulo generado en la pulpa dental del roedor indujo algún cambio conductual que se pudiera asociar con la respuesta psicosocial al dolor, como lo han reportado algunos científicos.

En la literatura se han documentado las neuronas von Economo en varias especies, incluyendo humanos, grandes simios, cetáceos, elefantes y manatíes; sin embargo, se ha refutado la idea de que los roedores posean estas neuronas. Pellicer *et al*.[42] emplearon la evaluación de la actividad de la enzima NADPH-d para sugerir una estrecha proximidad anatómica entre ciertas células con características similares a las neuronas von Economo; los hallazgos del presente estudio son **consistentes**

con los de ellos, ya que, a diferencia de ellos, se empleó la técnica de de impregnación de células nerviosas Golgi-Cox y así **se logró visualizar neuronas con las características descritas previamente por Constantin von Economo**. El método de Golgi-Cox continúa siendo el más confiable, ya que este método permite examinar la arborización dendrítica y la densidad espinal de manera precisa y confiable[32]; se empleó dicho método ya que, algunos de los objetivos específicos de este estudio, fue analizar la arborización y longitud dendrítica.

ESTIMULO MECÁNICO

Hanamori *et al*.[43] estudiaron el rol de la corteza insular durante la administración de un estímulo nocivo (pellizco de cola) en roedores Sprague-Dawley; la actividad en la corteza insular se registró utilizando microelectrodos de vidrio llenos de pantamina azul cielo, se amplificaron las respuestas neuronales y se mostraron en un osciloscopio; se identificaron 43 neuronas a lo largo de la corteza insular, siendo la respuesta excitatoria la más predominante; con estos hallazgos se infiere que la corteza insular tiene un papel en la recepción de información ante estímulo nocivo mecánico; sin embargo, en la corteza insular hay población celular de neuronas piramidales y neuronas Von Economo, **no se puede saber** cuáles fueron las neuronas que registraron dicha respuesta excitatoria; en nuestro estudio, a diferencia de ellos, **se obtuvo una visión directa de la neurona y corteza de interés, lo que permitió observar detalladamente los cambios que experimentaron en respuesta al estímulo nociceptivo.** Esta proximidad directa con el fenómeno brindó una perspectiva única y una comprensión más profunda de la dinámica neuronal subyacente, posibilitando una inferencia más precisa sobre las adaptaciones y respuestas neuronales ante estímulos nocivos.

ESTIMULO TÉRMICO

En el 2010, Peltz y *et al.*[38] examinaron la estructura citoarquitectónica particular de la ínsula, que presenta una región posterior caracterizada por granularidad y una región anterior sin granularidad, cada una vinculada a diversas áreas corticales. Los

estudios de neuroimagen funcional aportan indicios sobre la función de la ínsula en la representación objetiva de la intensidad del calor nocivo y del frío inocuo graduado; plantearon que la ínsula podría tener un papel modulador en la percepción del dolor, aunque aún no se comprende completamente su conectividad funcional durante distintos perfiles térmicos. Los hallazgos del estudio revelaron que la ínsula anterior (aINS) demostró una conectividad funcional con áreas cerebrales implicadas en la interpretación del componente afectivo-motivacional del dolor, tales como la corteza cingulada anterior (ACC) y la corteza prefrontal. Por otro lado, la ínsula posterior (pINS) exhibió una conectividad funcional con regiones cerebrales relacionadas con la percepción de características sensoriales discriminativas del dolor, como las cortezas somatosensoriales primaria y secundaria; al igual que el estudio de Hanamori *et al*.[43] los hallazgos exhiben similitud en relación con el estímulo nocivo; no obstante, no revelan la tipología neuronal que fue activada durante dicho período. Este vacío de información surge de restricciones éticas que impiden la realización de enfoques experimentales específicos. Como resultado, la evidencia científica concerniente a los cambios morfológicos es ***escasa***. **El presente estudio, por ende**, **constituye uno de los primeros informes científicos en este campo.**

ALGESIA

Para evaluar la respuesta a un estímulo térmico nociceptivo, se llevó a cabo la **prueba de analgesia** descrita por D'Amour y Smith[44], que implica sujetar un paño alrededor del roedor y permitir que su cola quede expuesta para sumergirla en agua caliente a 45°C. El método de movimiento de la cola (tail flick, en inglés) es una forma de evaluar la sensibilidad al dolor sin necesidad de lesionar al animal, ésta consiste en sumergir los dos tercios distales de la cola de una rata o ratón en un baño de agua a 52 °C. Se registra el tiempo que tarda en retirar la cola (movimiento rápido) antes de cualquier tratamiento (valor inicial) y se compara entre los diferentes grupos de tratamiento. Se establece un límite de tiempo de 10 segundos para evitar daños en la cola. Se pueden ajustar las temperaturas y los límites de tiempo, pero no se deben superar los 55 °C, ya que esto podría causar daño tisular

si la cola permanece en el agua durante 10 segundos.[45]; La prueba se llevó a cabo con el propósito de determinar si hubo alguna diferencia entre el grupo experimental y el grupo de lesión podría atribuirse al estímulo nocivo en el tejido pulpar; se observó que los animales con pulpitis mostraron una menor latencia para retirar la cola en comparación con el grupo control. Al graficar los resultados, se evidenció que los animales inoculados con LPS en la cámara pulpar mostraron una **menor latencia** para retirar la cola del estímulo nociceptivo (**2.4 s** en promedio) en comparación con el grupo de control del estudio **(3.9 s)**; se puede inferir que las fibras nerviosas aferentes primarias presentes en la cola del roedor fueron capaces de detectar la señal térmica de manera en un corto lapso debido a la actividad constante generada por el estímulo LPS. Dado que este estímulo fue constante (no necesariamente crónico), se presume una activación constante del receptor TRPV1 (activado por los cambios térmicos, en este estudio, el calor), la activación del receptor TRPV1 en neuronas sensoriales induce la generación de señales que se transmiten al sistema nervioso central, donde se interpretan como dolor. TRPV1 al ser activados induce la generación de potenciales de acción (despolarización de la fibra nerviosa) que llevan información nociceptiva. [46, 47]

Esto sugiere que se logró inducir sensibilidad periférica a estímulos dolorosos, aunque no se concluye si se trata de alodinia o hiperalgesia. Entonces, en un siguiente paso de investigación, se podría examinar los núcleos corticales relacionados con las respuestas emocionales al dolor y determinar qué cambios podrían haber experimentado.

MORFOLOGÍA, ARBORIZACIÓN Y LONGITUD

Alexander Constantin von Economo describió a estas células neuronales como tipo bipolar y tamaño considerable, localizadas en la capa 5 de dos áreas cerebrales específicas: la corteza anterior del cíngulo (ACC) y la corteza frontoínsular (FI)[48], estas neuronas han sido vinculadas con la evaluación intuitiva y la generación de respuestas rápidas en entornos sociales dinámicos, debido a sus características morfológicas y su ubicación anatómica. Se ha sugerido que podrían desempeñar un papel funcional amplio, que abarca desde la generación de respuestas autónomas

hasta funciones corticales complejas, como la cognición social.[49] En 2006, Watson *et al.*[50] realizaron un estudio morfológico de las neuronas Von Economo, además de describir su arborización dendrítica en el tejido nervioso de la corteza fronto-insular y la corteza anterior del cíngulo en un hombre fallecido a causa de un infarto; esto se llevó a cabo mediante la técnica de tinción Golgi y el análisis de Sholl. Los hallazgos indicaron que la arborización dendrítica de las VEN era menos abundante en comparación con las células piramidales; sin embargo, **al analizar la distancia desde el soma en términos del orden dendrítico de segundo y tercer orden, se observó una diferencia estadísticamente significativa, que se puede atribuir al estímulo nocivo constante**. Es importante volver a resaltar que, hasta la fecha, sólo existen estudios sobre estas células nerviosas en humanos [51, 52, 53] primates y no primates.[54] Con este estudio, **se proporciona la primera evidencia sobre la actividad de las neuronas von Economo frente a un estímulo nocivo pulpar en tejido dental pulpar de roedor;** su exclusiva ubicación topográfica dentro de la corteza frontoínsula (FI) y la corteza anterior del cíngulo (ACC) *sugiere* un posible papel en la función socioemocional, que incluye la cognición social y las funciones autónomas relacionadas.[55]

Al llevar a cabo el análisis de Sholl, se determinó que la longitud total de las neuronas en los biomodelos con pulpitis irreversible **no experimentó alteraciones significativas en comparación con los animales de control**. Esto inicialmente sugirió que la acción del LPS en la cámara pulpar fue agresiva ante el tejido conectivo y fibras nerviosas, posiblemente resultando en una situación celular similar a una necrosis pulpar, comparable a cuando el proceso carioso es tan extenso y lleva cierto tiempo actuando sobre el tejido pulpar, causando un degenere de éste. Sin embargo, surge la interrogante: ¿Por qué se observan diferencias en la prueba de algesia? Al examinar la representación gráfica de la arborización dendrítica, se observó aumento en la longitud en los puntos cercanos con respecto a los controles, y al realizar el análisis estadístico, se confirmó una diferencia significativa; **esto sugiere que los cambios son localizados**, quizás inicialmente sutiles, pero lo suficientemente significativos para alterar la forma en que este núcleo cortical modula los estímulos dolorosos bucodentales.

Numerosos estudios han señalado que los trastornos dolorosos pueden tener un impacto negativo en la calidad de vida de quienes los padecen, llevando a una disminución en la calidad de vida y a pérdidas económicas debido a la posible incapacidad laboral. Sin embargo, sólo recientemente ha surgido un interés en comprender la relación entre el dolor constante, a veces crónico, y la respuesta emocional del individuo. Hasta la fecha, hay una escasez de literatura que explora específicamente el dolor odontológico y su posible asociación con cambios conductuales inducidos por neuroplasticidad en regiones como la corteza insular. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue investigar las posibles alteraciones morfológicas de las neuronas Von Economo en la corteza insular de ratas Sprague-Dawley de 56 días de edad. Uno de los desafíos fue la población reducida de neuronas Von Economo en comparación con las neuronas piramidales. A pesar de ello, se logró identificar y mapear las neuronas en el área de interés que cumplían con los criterios establecidos por Kolb *et al*.[33] en 1998.

Dada la implicación de las VEN en estos aspectos de la función neuropsiquiátrica, es comprensible establecer una conexión entre alteraciones en el número, la estructura o la función de las VEN y trastornos neuropsiquiátricos como la esquizofrenia. Abordar de manera adecuada esta conexión implica una investigación exhaustiva sobre los mecanismos subyacentes que vinculan las alteraciones en las VEN con trastornos neuropsiquiátricos.[55] Se requiere no sólo identificar posibles correlaciones entre el número, estructura o función de las VEN y la aparición de dichos trastornos, sino también comprender cómo estas anomalías contribuyen a la patogénesis y progresión de los trastornos específicos. En este sentido, la generación de evidencia científica sólida es fundamental para respaldar la implementación de estrategias preventivas en el ámbito de la odontología. La odontología preventiva, al centrarse en mantener la salud oral y prevenir la progresión de enfermedades bucodentales, puede desempeñar un papel crucial en la reducción del riesgo de trastornos psicológicos. Se ha establecido una estrecha relación entre la salud oral y el bienestar mental, con evidencia que sugiere que las enfermedades periodontales, la pérdida dental y otras afecciones bucodentales

pueden estar asociadas con un mayor riesgo de trastornos psicológicos, como la **depresión** y la **ansiedad.**

Por un lado, el tratamiento endodóntico, que se enfoca en la salud de la pulpa dental y la eliminación de infecciones o inflamaciones, puede aliviar el dolor y mejorar la función masticatoria. Cuando se realiza de manera efectiva, este tratamiento puede reducir la ansiedad y el estrés asociados con el dolor dental crónico, lo que contribuye positivamente a la salud mental del paciente. Por otro lado, la odontología preventiva se centra en la prevención de enfermedades dentales y en la promoción de hábitos saludables de higiene oral. Al mantener una buena salud bucal a través de la prevención de caries, enfermedad periodontal y otras afecciones, se puede mejorar la autoestima y la confianza del paciente en su apariencia y bienestar general. Esto puede tener un impacto positivo en la salud mental al reducir la vergüenza o la incomodidad relacionada con problemas dentales visibles.

Por lo tanto, mejorar la salud bucal mediante prácticas preventivas, como la educación sobre higiene oral, la detección temprana y el tratamiento de enfermedades bucodentales, podría tener un impacto positivo en la salud mental de la población. El fomento de la odontología preventiva no solo tiene el potencial de mejorar la salud oral, sino que también puede contribuir significativamente a la prevención y limitación de trastornos de interés psicológico, mediante la reducción de factores de riesgo asociados y la promoción de estilos de vida saludable.

Basándonos en los hallazgos de la presente investigación, se afirma que el modelo estándar es altamente reproducible. Se logró generar evidencia que respalda la idea que los daños en los órganos dentarios que desencadenan inflamación y estimulan las vías ascendentes termo-algésicas pueden activar la corteza insular. Esta región cerebral, como se sabe, desempeña un papel fundamental en la participación en comportamientos negativos, como el miedo y la ansiedad, pero también se ha encontrado que la corteza insular desempeña un papel en emociones positivas, como la felicidad; además de diversas funciones cognitivas. [56, 57]

12. CONCLUSIÓN

Tras explorar la relación entre el dolor pulpar y los cambios morfológicos neuronales en la corteza insular, se observaron modificaciones **en el árbol dendrítico de segundo y tercer orden**. Aunque *no* se encontraron diferencias significativas en la longitud total, **la presencia de cambios en estas ramificaciones dendríticas sugiere la existencia de neuroplasticidad en las neuronas von Economo.**

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises: Concepts, challenges, and compromises. Pain. 2020;161(9):1976–82.
2. Świeboda P, Filip R, Prystupa A, Drozd M. Assessment of pain: types, mechanism and treatment. Ann Agric Environ Med. 2013;20(1):2-7.
3. Loeser JD, Melzack R. Pain: an overview. Lancet. 1999;353(9164):1607–9.
4. Farges J-C, Alliot-Licht B, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smith AJ. Dental pulp defense and repair mechanisms in dental caries. Mediators Inflamm. 2015; 230-252.
5. Rotpenpian N, Yakkaphan P. Review of literatures: Physiology of orofacial pain in dentistry. eNeuro. 2021;8(2): 1-7.
6. Bender I. Pulpal pain diagnosis--a review. J Endod. 2000;26(3):175–9.
7. Trowbridge H. Review of dental pain--histology and physiology. J Endod. 1986;12(10):445–52.
8. Kim S. Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. J Endod. 1990;16(2):48–53.
9. Murray GM. Referred pain, allodynia and hyperalgesia. J Am Dent Assoc. 2009;140(9):1122–4.
10. Kim S. Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. J Endod. 1990;16(2):48–53.
11. Murray GM. Referred pain, allodynia and hyperalgesia. J Am Dent Assoc. 2009;140(9):1122–4.
12. Merrill RL. Central mechanisms of orofacial pain. Dent Clin North Am. 2007;51(1):45–59.
13. Lu C, Yang T, Zhao H, Zhang M, Meng F, Fu H, et al. Insular cortex is critical for the perception, modulation, and chronification of pain. Neurosci Bull. 2016;32(2):191–201.
14. Frot M, Faillenot I, Mauguière F. Processing of Nociceptive Input from Posterior to Anterior Insula in Humans. Hum. Brain Mapp. 2014;35:5486–99.

15. Brooks JCW, Tracey I. The insula: a multidimensional integration site for pain. Pain. 2007;128(1–2):1–2.

16. Namkung H, Kim S-H, Sawa A. The insula: An underestimated brain area in clinical neuroscience, psychiatry, and neurology. Trends Neurosci. 2017;40(4):200–7.

17. Liberati G, Mulders D, Algoet M, van den Broeke EN, Santos SF, Ribeiro Vaz JG, et al. Insular responses to transient painful and non-painful thermal and mechanical spinothalamic stimuli recorded using intracerebral EEG. Sci Rep. 2020;10(1):22319.

18. Uddin LQ, Nomi JS, Hébert-Seropian B, Ghaziri J, Boucher O. Structure and function of the human insula. J Clin Neurophysiol. 2017;34(4):300–6.

19. Lamm C, Singer T. The role of anterior insular cortex in social emotions. Brain Struct Funct. 2010;214(5):579–91.

20. Zil-E-Ali A, Tariq R, Pervaiz N, Aadil M, Ali A, Ahmed A, et al. What is emotional pain? - A review of pathophysiology and treatment options. Intern Med Med Invest. 2018;3(4):1-4.

21. Gilam G, Gross JJ, Wager TD, Keefe FJ, Mackey SC. What is the relationship between pain and emotion? Bridging constructs and communities. Neuron. 2020;107(1):17–21.

22. von Economo, Koskinas. The Cytoarchitectonics of the Human Cerebral Cortex. Oxford University Press, London.1929.

23. Allman JM, Tetreault NA, Hakeem AY, Manaye KF, Semendeferi K, Erwin JM, et al. The von Economo neurons in the frontoinsular and anterior cingulate cortex. 2011;1225(1):59–71.

24. Seeley, W. W., Merkle, F. T., Gaus, S. E., Craig, A. D., Allman, J. M., & Hof, P. Distinctive neurons of the anterior cingulate and frontoinsular cortex: a historical perspective. Cerebral cortex. 2012. 22(2), 245–250.

25. Yeung AWK, Lee JCM, Tanabe HC, Ng SKS, Khong P-L, Leung WK, et al. Short version Dental Anxiety Inventory score may predict the response in the insular cortex to stimuli mimicking dental treatment. Front Hum Neurosci. 2019; 13:204.

26. Jantsch H, Kemppainen P, Ringler R, Handwerker H, Forster C. Cortical representation of experimental tooth pain in humans. Pain. 2005;118(3):390–9.

27. Gustin, S.M.; Peck, C.; Wilcox, S.; Nash, P; Murray, G; Henderson, L.A. Different pain, different brain: Thalamic anatomy in neuropathic and non-neuropathic chronic pain syndromes. J. Neurosci. 2011, 31,56–64.

28. Gutzeit A, Meier D, Meier ML, von Weymarn C, Ettlin DA, Graf N, et al. Insula-specific responses induced by dental pain. A proton magnetic resonance spectroscopy study. Eur Radiol. 2011;21(4):807–15.

29. Aguirre P. Cambios morfológicos en las neuronas de la corteza del cíngulo asociadas con el dolor emocional inducido por un estímulo nocivo en la pulpa dental. [Tesis de maestría]. Puebla: Universidad Autónoma de Puebla; 2018.

30. 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.

31. Tarsa L, Bałkowiec-Iskra E, Kratochvil FJ 3rd, Jenkins VK, McLean A, Brown A, et al. Tooth pulp inflammation increases brain-derived neurotrophic factor expression in rodent trigeminal ganglion neurons. Neuroscience. 2010;167(4):1205–15.

32. Zaqout S, Kaindl A. Golgi-Cox staining step by step. Front Neuroanat. 2016; 10:38.

33. Gibb R, Kolb B. A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. J Neurosci Methods. 1998; 79(1):1-4.

34. Sholl D. Dendritic organization in neurons of the visual and motor cortex of the cat. J. Anat. 1953; 87: 387–406.

35. 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: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2019.

36. Peltz E, Seifert F, DeCol R, Dörfler A, Schwab S, Maihöfner C. Functional connectivity of the human insular cortex during noxious and innocuous thermal stimulation. Neuroimage. 2011;54(2):1324–35.

37. Nakaya Y, Iwata K, Kobayashi M. Insular cortical descending projections facilitate neuronal responses to noxious but not innoxious stimulation in rat trigeminal spinal subnucleus caudalis. Brain Res. 2023;1804(14):148-248.

38. Djordjevic CM. Finding a meaning for pain: Definitions, sense-making, and philosophical health. J Eval Clin Pract. 2023;29(7):1196–202.

39. Yu CY, Abbott PV. Pulp microenvironment and mechanisms of pain arising from the dental pulp: From an endodontic perspective. Aust Endod J. 2018;44(2):82–98.

40. McCarberg B, Peppin J. Pain pathways and nervous system plasticity: Learning and memory in pain. Pain Med. 2019;20(12):2421–37.

41. Brodzikowska A, Ciechanowska M, Kopka M, Stachura A, Włodarski PK. Role of lipopolysaccharide, derived from various bacterial species, in pulpitis-A systematic review. Biomolecules. 2022;12(1):138.

42. Pellicer F, Singh S, Sánchez-Islas E, León-Olea M. Identification of spindle-shaped von Economo-like neurons in the rodent Rattus norvegicus. Research Square. 2022.

43. Hanamori T, Kunitake T, Kato K, Kannan H. Responses of neurons in the insular cortex to gustatory, visceral, and nociceptive stimuli in rats. J Neurophysiol. 1998;79(5):2535–45.

44. D'Amour, FE; Smith, DL (1941). "A method for determining loss of pain sensation". J Pharmacol Exp Ther. 1972 (1): 74–78.

45. Raj's Practical Management of Pain (Fourth Edition) 2008.

46. Immke DC, Gavva NR. The TRPV1 receptor and nociception. Semin Cell Dev Biol. 2006;17(5):582–91.

47. Palazzo E, Rossi F, Maione S. Role of TRPV1 receptors in descending modulation of pain. Mol Cell Endocrinol. 2008;286(1-2 Suppl 1):S79-83.

48. von Economo, C., & Koskinas, G. N. The cytoarchitectonics of the human cerebral cortex. London: Oxford University Press. 1929.

49. González-Acosta CA, Ortiz-Muñoz D, Becerra-Hernández LV, Casanova MF, Buriticá E. Von Economo neurons: Cellular specialization of human limbic cortices? J Anat. 2022;241(1):20–32.

50. Watson KK, Jones TK, Allman JM. Dendritic architecture of the von Economo neurons. Neuroscience. 2006;141(3):1107–12.

51. Banovac I, Sedmak D, Džaja D, Jalšovec D, Jovanov Milošević N, Rašin MR, et al. Somato-dendritic morphology and axon origin site specify von Economo neurons as a subclass of modified pyramidal neurons in the human anterior cingulate cortex: Somato-dendritic morphology of von Economo neurons. J Anat. 2019;235(3):651–69.

52. Correa-Júnior ND, Renner J, Fuentealba-Villarroel F, Hilbig A, Rasia-Filho AA. Dendritic and spine heterogeneity of von Economo neurons in the human cingulate cortex. Front Synaptic Neurosci. 2020;12:25.

53. Evrard HC, Forro T, Logothetis NK. Von Economo neurons in the anterior insula of the macaque monkey. Neuron. 2012;74(3):482–9.

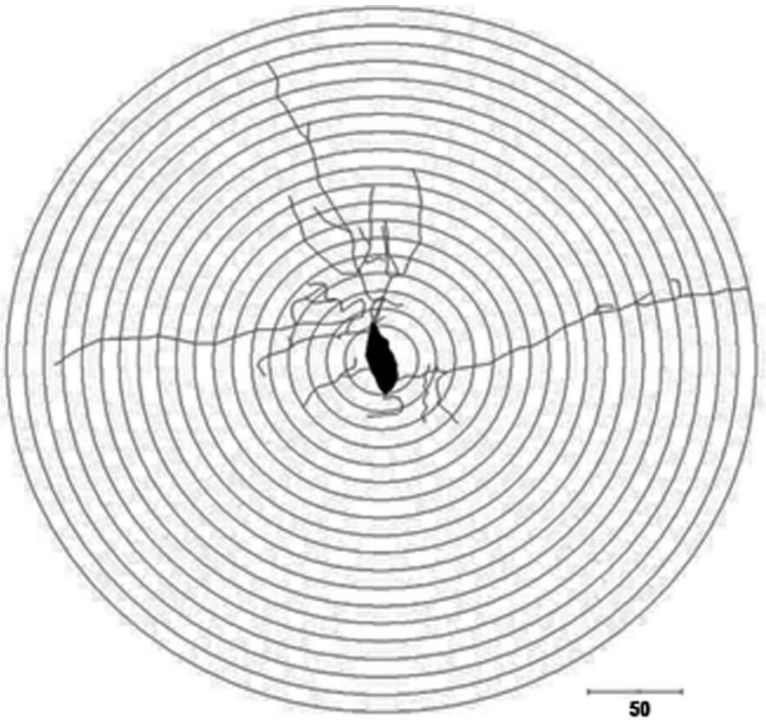
54. Raghanti MA, Spurlock LB, Treichler FR, Weigel SE, Stimmelmayr R, Butti C, et al. An analysis of von Economo neurons in the cerebral cortex of cetaceans, artiodactyls, and perissodactyls. Brain Struct Funct. 2015;220(4):2303–14.

55. Senatorov VV, Damadzic R, Mann CL, Schwandt ML, George DT, Hommer DW, et al. Reduced anterior insula, enlarged amygdala in alcoholism and associated depleted von Economo neurons. Brain. 2015;138(Pt 1):69–79.

56. Klein, A.S.; Dolensek, N.;Weiand, C.; Gogolla, N. Fear Balance Is Maintained by Bodily Feedback to the Insular Cortex in Mice. Science 2021, 374, 1010–1015.

57. Torres, R.F.; Stehberg, J. The Role of the Rodent Insula in Anxiety. Front. Physiol. **2019**, 10, 330.

14. ANEXOS



PLACA DE ANÁLISIS DE SHOLL

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

FORMATO DE CAPTURA DE DATOS EN EXCEL