



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**EFFECTOS DE LA DENERVACIÓN
SIMPÁTICA CON GUANETIDINA EN EL
HUESO ALVEOLAR MANDIBULAR DE
RATAS PREPÚBERES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

ERANDY ANDREA CORAS SÁNCHEZ

DIRECTOR: M. en C. UBALDO QUIRÓZ LÓPEZ

ASESOR: GERARDO LLAMAS VELASQUÉZ



MÉXICO D. F.

JUNIO, 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A Dios por permitirme llegar a este momento, por darme la vida y regalarme una familia maravillosa.

A mis padres, Miguel y Ma. Luisa, por darme una carrera para mi futuro, por su cariño, comprensión y apoyo incondicional.

A mis hermanos, América y Luis que la vida me regalo y por estar siempre conmigo.

A mi director M. en C. Ubaldo Quiroz López y a mi asesor C.D Gerardo Llamas Velásquez por permitirme ser parte de su equipo de trabajo. Por sus paciencia, dedicación, por compartir sus conocimientos conmigo e inspirar en mi mucha admiración.

A los miembros del jurado:

CD. Laura Elena Pérez Flores.

CD. Oscar Fierro Ayala.

CD. Juan Carlos Maldonado García.

Por sus valiosas sugerencias y el interés mostrado en este estudio.

A la Unidad de Investigación de Biología de la Reproducción en especial a la Dra. Leticia Morales Ledesma, al Dr. Roberto Domínguez Casalá y a la laboratorista Maria Luisa Illescas Vera, por las facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.

Al laboratorio de Producción en especial al técnico Ángel Tovar Luna, a la QFB. Lucrecia y a la laboratorista Elcie Amira Monroy, por facilitar el uso del analizador de imágenes, por su apoyo y disponibilidad.

Al personal técnico del laboratorio de Histología, por sus muestras de apoyo y por facilitarnos lo necesario para la realización de este trabajo.

Al personal académico y técnico del Bioterio de la FES-Zaragoza, en especial a la Dra Adriana Altamirano, por el cuidado brindado a los animales empleados en la realización de este trabajo.

A mis compañeros de Laboratorio de Biología Oral, por apoyarme en todo momento, facilitándome todo lo necesario para el logro de nuestros objetivos científicos.

A cada uno de los doctores que participaron en mi desarrollo profesional durante la carrera, sin su ayuda y conocimientos no estaría en donde me encuentro ahora.

A mis amigas Claudia Luna y Adriana Hernández, por ser parte importante en mí vida, por sus consejos, por compartir tantas aventuras, experiencias y triunfos. Pero principalmente por su amistad.



ÍNDICE

Introducción	1
Justificación	2
Planteamiento del problema	3
Marco Teórico	4
Objetivos	37
- Objetivo General	
- Objetivos Específicos	
Hipótesis	38
Diseño Metodológico	39
Recursos	46
Resultados	48
Discusión.....	62
Conclusiones	72
Propuestas	73
Referencias	74



INTRODUCCIÓN

El diente y sus estructuras de soporte reciben inervación sensitiva y simpática, provenientes del nervio trigémino y del ganglio cervical superior, respectivamente. Se han descrito terminaciones nerviosas autónomas en el periostio, endostio y hueso cortical. Muchas de estas fibras se dirigen hacia la túnica vascular de las arteriolas. Por lo que se sabe que las fibras simpáticas participan en la regulación del flujo sanguíneo, vasoconstricción, incremento de la presión arterial y en la permeabilidad vascular.

La inervación simpática está constituida por fibras amielínicas tipo C de 0.5 a 2 μ m de diámetro, las cuales secretan neurotransmisores como las catecolaminas y neuropéptidos como el péptido intestinal vasoactivo y el neuropéptido Y. También se ha propuesto la existencia de fibras tipo C parasimpáticas con la presencia de acetilcolina.

Tradicionalmente se ha aceptado que las fibras simpáticas sólo participan en la regulación del flujo sanguíneo; pero aún no se conoce del todo, si estas fibras influyen en el proceso de remodelación del hueso alveolar. Para analizar una posible participación de la inervación simpática se realizó una denervación a través del fármaco guanetidina. Este fármaco en bajas dosis actúa como un falso neurotransmisor y provoca una depleción de la noradrenalina en ganglios simpáticos, mientras que en altas dosis provoca destrucción de las fibras simpáticas.

En el presente trabajo se analizarán los efectos de la denervación simpática sobre el hueso alveolar y en las células progenitoras (osteoblastos y osteoclastos) de ratas prepúberes, ya que se sabe poco de la participación del sistema nervioso simpático en los efectos que inducen la remodelación ósea. Se describe en forma breve la embriología y componentes histológicos del periodonto de sostén, así como su inervación. También se menciona la clasificación de las fibras nerviosas indicando cuáles inervan al hueso y su función.



JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el desarrollo tecnológico ha permitido la realización de un sinnúmero de investigaciones, principalmente en el área de las Ciencias de la Salud. Los nuevos conocimientos generados permiten perfeccionar tratamientos y también fármacos que resuelven los problemas de salud. A nivel mundial la investigación en el área odontológica ha registrado un avance significativo tanto en el área básica como en la aplicada.

En nuestro país hay algunos grupos de investigación enfocados en desarrollar nuevos materiales para la práctica odontológica, aplicación de láser en operatoria dental, investigación de materiales biocompatibles, entre otros. Sin embargo, en el área básica existen pocos grupos de investigación que permitan generar nuevos conocimientos que serán la base para el desarrollo de la investigación aplicada. De ahí la importancia de apoyar y fortalecer a los grupos de investigación básica.

Se ha mostrado que la participación de la inervación simpática sobre las funciones reproductivas varía a lo largo de la vida del animal, por lo que se decidió en este estudio analizar el rol de esta inervación en la rata púber. Por tanto, esta tesis pretende profundizar y dilucidar el papel que tiene la información neural en la fisiología del hueso alveolar. Su conocimiento permitirá abordar otras estrategias en el tratamiento de la enfermedad periodontal, ortodoncia, endodoncia, entre otras.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Estudios recientes sugieren que el metabolismo óseo está influenciado por el sistema nervioso. Esta idea ha sido apoyada recientemente por algunos investigadores que mediante estudios de inmunohistoquímica han mostrado la presencia de fibras simpáticas catecolaminérgicas y peptidérgicas como el neuropéptido Y, péptido intestinal vasoactivo, péptido relacionado con el gen de la calcitonina y la sustancia P.^(1, 2) Con base en lo anterior se decidió analizar los efectos de la denervación simpática mediante la administración de guanetidina, para saber ¿Cómo participa la inervación simpática sobre los mecanismos que intervienen en la remodelación ósea?



MARCO TEÓRICO

El periodonto se divide de acuerdo a su función en: periodonto de protección y de inserción. El periodonto de protección está compuesto de encía, que es la parte de la mucosa bucal masticatoria que tapiza los procesos alveolares y rodea al cuello de los dientes; y la unión dentogingival que une la encía al diente.^(3,4) Embriológicamente estas estructuras derivan del ectodermo superficial, específicamente del epitelio de la mucosa bucal.^(3, 5)

El periodonto de inserción lo componen tres estructuras: cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. Estas estructuras derivan del ectomesénquima (denominado así porque se origina de la cresta neural), específicamente del saco dental. Las fibras colágenas del ligamento periodontal se insertan al cemento radicular por un lado, y por el otro, al hueso que rodea el alvéolo constituyendo la articulación alvéolodentaria que permite que el diente se mantenga en su posición y resista las fuerzas masticatorias.^(3, 4)

Las estructuras del periodonto de inserción constituyen una unidad funcional y evolucionan interrelacionada y coordinadamente durante la vida del diente.⁽³⁾

CEMENTO

El cemento es un tejido conectivo mineralizado. A semejanza del esmalte, el cemento cubre la dentina, aunque sólo en la porción radicular. La matriz extracelular del cemento contiene aproximadamente: 46 a 50% de materia inorgánica, 22% de materia orgánica y 32% de agua. La porción inorgánica consiste principalmente de calcio y fosfato en forma de hidroxiapatita. También presentan carbonatos de calcio y oligoelementos, entre los que podemos mencionar: sodio, potasio, hierro, magnesio, azufre y flúor. Es importante destacar que el cemento tiene el contenido de fluoruro más elevado de todos los tejidos mineralizados. La porción orgánica del cemento está constituida fundamentalmente por colágena de tipo I y polisacáridos proteicos (proteoglucanos).^(3,6)



Son dos los tipos principales de cemento radicular: cemento acelular primario y celular (secundario). El cemento acelular puede cubrir la dentina radicular desde la unión cementoadamantina hasta el ápice, pero a menudo falta en el tercio apical de la raíz. Aquí el cemento puede ser en su totalidad de tipo celular. Ambos están formados por elementos celulares como los cementoblastos y cementocitos, y por una matriz extracelular calcificada.^(4, 3, 6)

Los cementoblastos se encuentran adosados a la superficie del cemento, del lado del ligamento periodontal. Sus funciones son sintetizar tropocolágeno que formará las fibras colágenas intrínsecas, proteoglicanos y glicosaminoglicanos para la matriz extracelular. Una vez que los cementoblastos quedan incluidos en el cemento mineralizado, se les denomina cementocitos. Éstos se alojan en cavidades denominadas cementoplastos o lagunas. El cementocito típico presenta de 10 a 20 prolongaciones citoplasmáticas, que emergen del cuerpo celular. Estas prolongaciones se extienden por los canalículos, de esta forma pueden ramificarse y establecer contacto con las prolongaciones de otros cementocitos vecinos. La mayoría de las prolongaciones tienden a dirigirse hacia la superficie externa en dirección al periodonto, ya que el ligamento periodontal es la fuente de nutrición del cemento.⁽⁶⁾

Otro tipo de células que pueden hallarse en relación con el cemento son los cementoclastos, los cuales tienen la capacidad de resorción de los tejidos duros. Este tipo de células aparecen en ciertas patologías y también durante la resorción radicular de los dientes deciduos o en caso de excesivo movimiento dental ortodóntico. En condiciones normales, estas células están ausentes en el ligamento periodontal, puesto que el cemento no se remodela.⁽³⁾

La función primaria del cemento es proporcionar un medio para la retención de las fibras de colágena (ligamento periodontal) que fijan el diente al hueso alveolar. Las fuerzas oclusales crean tensión sobre las fibras del ligamento periodontal, que se traducen en el



cemento en fenómenos de cementogénesis que ocurre principalmente en el tercio apical.^(6, 3)

El depósito continuo de cemento tiene considerable importancia funcional, es necesario para el desplazamiento mesial y la erupción compensatoria de los dientes por el desgaste oclusal. De esta forma se hace posible el mantenimiento para un apropiado sistema de fijación, permitiendo la reorientación y conservando la inserción de las fibras periodontales durante el movimiento dentario.^(6, 3)

LIGAMENTO PERIODONTAL

El ligamento periodontal es una delgada capa de tejido conectivo fibroso, que por medio de sus fibras une el elemento dentario al hueso alveolar que lo aloja, se continúa con el tejido de la encía y se comunica con los espacios medulares a través de los conductos vasculares del hueso.^(6, 4)

Está constituido por células, fibras y sustancia fundamental amorfa, además posee vasos sanguíneos y nervios. Se reconocen en el ligamento periodontal tejido conectivo, restos epiteliales, células de defensa y células relacionadas con los elementos vasculares.^(4, 3)

Las células del tejido conectivo incluyen a los fibroblastos, cementoblastos y osteoblastos. Los fibroblastos producen la sustancia que conforma el tejido conectivo, incluyendo el colágeno, proteoglicanos y la elastina. Además de sintetizar colágeno, también tienen la capacidad de fagocitar fibras de colágeno “viejas” y degradarlas mediante hidrólisis enzimática. Estas fibras se disponen paralelas a los haces de fibras y en apariencia sus prolongaciones envuelven a las mismas.^(4, 3)

Los osteoblastos y cementoblastos, así como los osteoclastos, pueden encontrarse en la superficie ósea, en el cemento y ligamento periodontal. Los restos epiteliales de Malassez forman un entramado en el ligamento periodontal y aparecen como grupos aislados de células. Son remanentes de la vaina radicular de Hertwing, que se integran



durante el desarrollo radicular. Las células de defensa incluyen a los macrófagos, mastocitos y eosinófilos.⁽⁴⁾

Las estructuras vasculares y nerviosas están contenidas en el tejido intersticial, que corresponde a porciones del tejido conectivo laxo que se encuentra entre los haces de las fibras principales. El plexo vascular es más evidente en las proximidades del hueso que hacia el cemento y presenta mayor desarrollo en el tercio apical y cervical que en el tercio medio. Los delgados vasos linfáticos tienden a seguir el recorrido venoso, llevando la linfa desde el ligamento hacia el hueso alveolar. Los pequeños nervios periodontales acompañan a los vasos sanguíneos. Corren ramificándose desde la región periapical hacia gingival, y otros que penetran a través de los forámenes de los tabiques del hueso alveolar. Algunas de las fibras más pequeñas son autónomas y controlan los vasos sanguíneos, otras son sensoriales y dan terminaciones libres que funcionan como nociceptores, mecanorreceptores y propioceptores.⁽³⁾

La sustancia fundamental consta de dos componentes principales: glucosaminoglucanos, como el ácido hialurónico y proteoglicanos; glucoproteínas, como la fibronectina y laminina; también su contenido de agua es elevado (70%).⁽⁴⁾

Las fibras periodontales principales están compuestas de modo primario por colágena tipo I, en tanto que las fibras reticulares son de colágena tipo II, dispuestas en fascículos y siguen una trayectoria sinuosa en cortes longitudinales. Las porciones terminales que se insertan en el cemento y el hueso reciben el nombre de fibras de Sharpey. Las fibras principales del ligamento periodontal están dispuestas en seis grupos: transeptales, de las crestas alveolares, horizontales, oblicuas, apicales e interradiculares.⁽⁴⁾

Las funciones del ligamento periodontal son de tipo físico: por la resistencia al impacto de las fuerzas oclusales amortiguan; también intervienen en la formación y resorción del cemento y el hueso que ocurre con el movimiento dental fisiológico; por lo que de manera constante el ligamento periodontal experimenta remodelación. Por último, también aporta



nutrientes al cemento, hueso y encía por medio de los vasos sanguíneos, además de proveer drenaje linfático.⁽⁴⁾

HUESO ALVEOLAR

Las apófisis alveolares forman parte de los huesos maxilares superior e inferior; no existe un límite anatómico preciso entre el cuerpo del maxilar y los procesos alveolares propiamente dichos; si bien existen diferencias en cuanto al origen y la función de ambas estructuras.⁽³⁾

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conectivo que está compuesto por células y matriz extracelular. Contiene un 60% de sustancias minerales, 20% de agua y 20% de componentes orgánicos.⁽³⁾

El principal componente estructural de la matriz ósea es el colágeno de tipo I y en menor medida, colágeno de tipo III y IV. Estos colágenos constituyen alrededor del 90% de la matriz orgánica. La matriz también contiene sustancia fundamental en la forma de glucosaminoglucanos (hialurano, condroitin sulfato y queratán sulfato), pequeñas glucoproteínas (osteocalcina, osteonectina y osteopontina) y varias sialoproteínas. Las glucoproteínas y las sialoproteínas de la sustancia fundamental desempeñan un papel en la fijación de calcio durante el proceso de mineralización.⁽⁷⁾

La característica que distingue al tejido óseo de los tejidos conectivos es la mineralización de su matriz, que produce un tejido muy duro capaz de proveer sostén y protección. El mineral es fosfato de calcio en la forma de cristales de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. El tejido óseo también sirve como depósito de calcio y fosfato.⁽⁷⁾

El estímulo para la formación de los bordes alveolares lo proporcionan los dientes en crecimiento. La pared ósea de los alveolos comienza a desarrollarse cuando se ha completado la corona y se inicia el crecimiento de la raíz del folículo dentario.⁽³⁾



A medida que progresa el desarrollo radicular por inducción de la vaina de Hertwing, algunas células de la capa interna del saco o folículo dentario se aproximan a la superficie radicular, transformándose en cementoblastos; otras que se diferencian en fibroblastos, forman la membrana periodontal, mientras las más externas adquieren capacidad osteogénica, diferenciándose en osteoblastos. Éstos, por un proceso de osificación intramembranosa, originan trabéculas osteoides que paulatinamente se calcifican. Estas trabéculas están constituidas por un tejido óseo inmaduro que más adelante es remodelado y sustituido por tejido óseo secundario o laminar. Las áreas mesenquimatosas que permanecen entre las trabéculas óseas se diferencian posteriormente en médula ósea.⁽³⁾

El tejido óseo formado a partir del saco dentario se integra a las trabéculas de las canastillas óseas y así al cuerpo del maxilar en desarrollo. Una vez que las trabéculas alveolares se disponen en una red elaborada y alcanzan un cierto espesor, la aposición periférica hace que se produzca la formación de capas superficiales de tejido óseo cortical compacto. Se forman, así, dos placas de tejido óseo compacto con una capa intermedia de tejido esponjoso, estructura típica de los procesos alveolares.⁽³⁾

Como en toda formación ósea, en el hueso alveolar en desarrollo están presentes células osteoprogenitoras, osteoblastos que depositan matriz ósea e inducen a su posterior calcificación, osteoclastos que participan en la resorción ósea y osteocitos que quedan en la matriz mineralizada. Todos estos tipos celulares tienen una influencia decisiva en el hueso alveolar, ya que permiten crecimiento por aposición, la resorción y la neoformación de tejido óseo. De esta forma los procesos alveolares se ajustan a las piezas dentarias que están desarrollándose y posteriormente a la erupción de las mismas, evolucionan hasta alcanzar su estructura definitiva. En el tejido óseo se encuentran tipos diferentes de células como:⁽³⁾

➤ Las células osteoprogenitoras se localizan en las superficies interna y externa de los huesos; pueden ser de dos tipos: los preosteoblastos y los preosteoclastos. Los primeros proceden de células mesenquimáticas indiferenciadas y se localizan en el tejido



conectivo que forma el periostio, endosito y el tejido conectivo perivascular. Son células fusiformes con abundante retículo endoplásmico rugoso (RER) y escaso aparato de Golgi. Estas células dan origen a los osteoblastos y osteocitos y en ellas se detecta fosfatasa alcalina de forma significativa. Los preosteoclastos que derivan de los monocitos o de sus precursores son células fusiformes con numerosas mitocondrias, ribosomas libres y un aparato de Golgi muy desarrollado. En los preosteoclastos menos diferenciados la fosfatasa ácida es sensible a la inhibición por tartrato (TRAP-) y en los más diferenciados es resistente a dicha inhibición (TRAP+). De este tipo celular derivan también los osteoclastos.⁽³⁾

➤ Los osteoblastos son las células encargadas de la síntesis, secreción y mineralización de la matriz orgánica. En las zonas con actividad osteogénica, los osteoblastos se encuentran separados de la matriz ósea calcificada por una zona de matriz no mineralizada, denominada sustancia osteoide.⁽³⁾

Los osteoblastos activos son células cuboides mononucleadas, el complejo de Golgi, muy desarrollado, está situado entre el núcleo y la sustancia osteoide. El RER es muy extenso y las mitocondrias aparecen diseminadas por el citoplasma. En la matriz mitocondrial se identifican gránulos de fosfato de calcio asociados a glicoproteínas. Estos gránulos estarían relacionados con el papel que juegan las mitocondrias en la regulación de los niveles de calcio y de fosfato de citosol. El citoesqueleto también está bastante desarrollado, porque interviene en la secreción de las sustancias sintetizadas.⁽³⁾

A medida que los osteoblastos van secretando la sustancia osteoide, la cual luego se calcifica, algunos quedan encerrados dentro de la misma y se transforman en osteocitos. Las cavidades que los alojan se denominan osteoplastos u osteocelos. De los osteoplastos se desprenden radialmente gran número de conductillos calcóforos en cuyo interior se alojan las prolongaciones citoplasmáticas de los osteocitos. Estas prolongaciones contienen microfilamentos contráctiles de actina, y hacen contacto por medio de nexos con las prolongaciones de los osteocitos vecinos, así como con los



osteoblastos de la superficie. En consecuencia, todas estas células quedan intercomunicadas por medio de un sistema de lagunas y conductos que forman una red funcional tridimensional, conocida como sistema canaliculolacunar, o sistema de microcirculación ósea. Entre la membrana plasmática del osteocito y la pared ósea del conductillo o laguna queda un espacio, el espacio periostiocítico, el cual contiene un líquido extracelular con una elevada concentración de potasio. El líquido de los espacios periostiocíticos se continúa con el líquido extracelular general. A través del mismo se producen los intercambios metabólicos; esto explica el por qué las células situadas en la profundidad de la matriz ósea pueden responder a estímulos hormonales.⁽³⁾

La cara lacunar de la matriz calcificada es una zona de gran densidad cálcica, por lo que se le denomina lámina densa; se le considera equivalente a la dentina peritubular. Se piensa que esta lámina densa está bajo el control del osteocito en procesos tales como la osteólisis osteocítica. Ésta es un tipo de resorción ósea causada por los osteocitos, mediada por la parathormona que acontecería en situaciones normales y participaría en los mecanismos homeostáticos de regulación rápida de la calcemia.⁽³⁾

➤ Los osteoclastos son las células encargadas de degradar la matriz, es decir, de producir la resorción ósea. Pueden encontrarse en cualquier área superficial del tejido óseo alveolar: en la superficie periodontal, perióstica o de las trabéculas. Siempre se encuentran adosados a la matriz calcificada por lo que se cree que, de haber osteoide, éste es removido previamente, por acción de los osteoblastos estimulados por la PTH. Aparentemente, las moléculas que son liberadas al deteriorarse la matriz por actividad de los osteoblastos atraen a los monocitos. Éstos dan lugar a los preosteoclastos, que al fusionarse, dan a su vez origen a los osteoclastos, que son las células responsables de la resorción ósea.⁽³⁾

Debido a su origen y características morfofuncionales, los osteoclastos se consideran integrantes del sistema fagocítico mononuclear, formado por todos los macrófagos de nuestro organismo, más los monocitos y células precursoras que les dan origen. Los



osteoclastos son células grandes, multinucleadas, que contienen numerosas mitocondrias con gránulos electrodensos de fosfato de calcio. La abundancia de mitocondrias es responsable de la acidofilia citoplasmática.⁽³⁾

En la superficie de resorción los osteoclastos presentan un “borde rugoso o vellos”, formado por abundantes microvellosidades irregulares, provistas de microfilamentos de actina. Entre las microvellosidades se originan invaginaciones de membrana tubulares muy tortuosas, que se introducen profundamente en el citoplasma. En el citoplasma adyacente existen también pequeñas vesículas que son fosfatasa ácida positiva (lisosomas). En el borde externo de la superficie de reabsorción se encuentra una zona perimetral denominada zona de sellado del osteoclasto. Contiene microfilamentos y se fija al hueso permitiendo que bajo el borde rugoso, se cree un microambiente cerrado en donde se producen los fenómenos de reabsorción. Entre las propiedades más características de los osteoclastos, destacan la existencia de receptores de calcitonina y la presencia significativa de anhidrasa carbónica en las microvellosidades del ribete.⁽³⁾

Los osteoclastos liberan ácidos orgánicos y enzimas hidrolíticas lisosomales hacia el espacio extracelular, lo que causa la degradación, tanto de la parte mineral, como de los componentes orgánicos de la matriz ósea. A medida que se produce la resorción u osteólisis, los osteoclastos van excavando la superficie del tejido óseo, formando unas cavidades que se conocen como lagunas de Howship. Cuando los osteoclastos se retiran, esas lagunas son invadidas por osteoblastos, que forman nuevo tejido óseo. Se completa así el proceso de recambio o remodelado (resorción–neoformación), proceso que posibilita la permanente renovación del tejido óseo y la adaptación a las fuerzas que se ejercen sobre él, modificando su estructura interna y aún la forma de toda pieza anatómica. El proceso de recambio está influenciado por factores generales, como la PTH, la calcitonina y la vitamina D₃ y los factores locales, como las interleucinas IL-1 e IL-6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el interferón alfa (IFN- α), la prostanglandina E₂ (PGE₂) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).⁽³⁾



➤ Las células bordeantes óseas son fusiformes y aplanadas, revisten la matriz ósea en aquellos lugares en los que ésta, ni se forma por los osteoblastos ni se destruye por los osteoclastos. Se unen unas a otras, así como a las prolongaciones de los osteocitos por medio de uniones comunicantes. El número celular es homogéneo y las organelas escasas. La actividad funcional está relacionada con el establecimiento de un límite o barrera en el tejido óseo, que hace posible que en el seno del mismo, en un determinado micromedioambiente, tengan lugar actividades y reacciones específicas del metabolismo fosfocálcico. Las células bordeantes óseas se originan al igual que el osteocito, a partir del osteoblasto, cuando éste finaliza su actividad funcional. Para algunos autores la célula bordeante sería un tipo celular detenido en G_0 , que podría, en determinadas circunstancias, volver al ciclo y diferenciarse hacia osteoblasto.⁽³⁾

ESTRUCTURA DEL HUESO ALVEOLAR

Los bordes alveolares, al ser una extensión del cuerpo óseo de los maxilares, siguen la curvatura de los respectivos arcos dentarios, formando las paredes de una serie de cavidades cónicas, abiertas por sus bases: los alveolos dentarios, que alojan las raíces de los dientes. Estos alveolos pueden ser cavidades simples o compuestas, según los ocupen dientes uni, bi o trirradiculares.⁽³⁾

En cada alveolo podemos distinguir dos tipos de paredes o bordes alveolares: La primera consiste en una fina laminilla de hueso que rodea a la raíz del diente y presta inserción a las principales fibras del ligamento periodontal. Es el hueso alveolar propiamente dicho. La segunda tabla rodea al hueso alveolar y da soporte al alveolo. Se denomina hueso alveolar de sostén. Este último, a su vez consta de dos partes: 1) láminas corticales, las cuales se componen de hueso compacto y forman las tablas internas y externas de los procesos alveolares, y 2) el hueso esponjoso, que llena el área entre estas laminillas y el hueso alveolar.^(3, 6)



En un corte vestibulolingual o palatino, las tablas alveolares presentan una forma triangular cuya base se continúa con el cuerpo maxilar respectivo. El vértice superior corresponde a la cresta alveolar, la cual está ubicada próxima al cuello anatómico del diente. La vertiente que corresponde a la cara libre, denominada compacta perióstica, o cortical perióstica, está constituida por tejido óseo compacto y revestido por periostio. La vertiente alveolar también está formada por tejido óseo compacto, y se denomina cortical o compacta periodóntica, ya que está directamente relacionada con el ligamento periodontal. En el centro suele haber tejido óseo medular, trabecular o esponjoso, excepto a nivel de las crestas alveolares, donde ambas compactas entran en contacto. La cresta alveolar, la compacta perióstica y la unión dentogingival están tapizadas de encía.⁽³⁾

Los tabiques interdentarios o interradiculares siempre presentan una abundante cantidad de tejido óseo esponjoso, revestido por dos corticales compactas, ambas periodónticas, que se unen en la cresta del tabique. La zona crestal interdentaria está tapizada por encía.⁽³⁾

El tejido óseo que forma las láminas compactas o corticales de los procesos alveolares tiene un doble origen: la capa más periférica de la compacta periodóntica es de origen periodóntico, es decir, crece por aposición a partir de las regiones osteogénicas del ligamento periodontal. La zona más interna, por su parte, es de origen medular, se forma a expensas de los osteoblastos del tejido medular adyacente. La compacta perióstica también está formada por una capa externa de origen perióstico y una más profunda de origen medular.⁽³⁾

La compacta de origen periodóntico aparece en las radiografías como una fina lámina más radioopaca que el resto del hueso alveolar, debido a ello se le suele llamar lámina dura. Desde el punto de vista histológico está constituida por tejido óseo laminar, cuyas laminillas corren paralelas a la superficie alveolar. Está atravesada por numerosos haces de fibras de Sharpey, que se encuentran densamente empaquetadas y



considerablemente calcificadas. Debido a la abundancia de haces fibrilares esta lámina ósea recibe también la denominación de hueso fasciculado.⁽³⁾

Es llamada igualmente lámina cribosa o placa cribiforme; ello se debe a que se encuentra perforada por múltiples foraminas (que pueden ser consideradas conductos de Volkmann) por las que pasan vasos y nervios hacia y desde el ligamento periodontal. Desde el punto de vista funcional, esta lámina cribosa de la compacta periodóntica se denomina hueso de inserción, ya que por ser la región del proceso alveolar donde se insertan las fibras periodontales, es la parte dinámicamente involucrada en la articulación alveolodentinaria. A su vez, el resto del tejido óseo del borde alveolar, que corresponde a la compacta periodóntica de origen medular, a la porción esponjosa y a la compacta perióstica, se denomina hueso de sostén.⁽³⁾

La compacta de origen perióstico representa la continuación de la cortical del hueso maxilar y tiene por tanto, su misma estructura, función, relación y origen; está formada por tejido óseo laminar penetrado por una moderada cantidad de fibras del periostio. El tejido óseo compacto de origen medular de ambas corticales presenta laminillas con una disposición más irregular, algunas de las cuales constituyen sistemas de Havers, mientras otras describen amplias curvas que se continúan con las trabéculas medulares. El tejido óseo compacto de ambas regiones es rico en glicosaminoglicanos sulfatados, lo que se interpreta como un tejido susceptible de una mayor mineralización ante distintos estímulos.⁽³⁾

El tejido óseo esponjoso o medular, que se encuentra muy desarrollado en los tabiques alveolares y se presenta también en algunas de las tablas, es un tejido compuesto por trabéculas, espículas y espacios medulares, por lo que presenta una imagen radiográfica de variable densidad. Las trabéculas se encuentran revestidas enteramente por endostio; están compuestas por tejido óseo laminar con finas fibras colágenas, aunque las más anchas pueden contener sistemas de Havers.⁽³⁾



El tamaño y la forma de las trabéculas, si bien están determinados genéticamente, son en parte el resultado de la actividad de los procesos alveolares. Las trabéculas están orientadas de manera que puedan resistir apropiadamente las fuerzas que soporta el hueso maxilar. Suelen discriminarse, de acuerdo con las imágenes radiográficas, dos tipos de trabéculas:

- Trabéculas de tipo I: regulares, gruesas y horizontales, semejantes a gradas; son típicas del maxilar inferior.
- Trabéculas de tipo II: finas, delicadas y dispuestas irregularmente; son comunes en el maxilar superior.⁽³⁾

Los espacios entre las trabéculas están ocupados por médula ósea. En individuos jóvenes se trata de médula ósea roja (formada por tejido hematopoyético), pero con la edad se transforma en médula ósea amarilla, cargada de adipocitos e incapaz de producir células sanguíneas.⁽³⁾

REMODELACION ÓSEA

La remodelación ósea es un proceso local, que se lleva a cabo en pequeñas poblaciones celulares denominadas unidades de remodelación ósea, compuestas por osteoblastos, osteoclastos, rama capilar, rama nerviosa y tejido conectivo asociado. Este proceso cumple objetivos locales (como la renovación del hueso deteriorado, adaptación a las necesidades mecánicas) y generales (metabólicos). El remodelado óseo puede dividirse en las siguientes fases:⁽⁸⁾

- a) Fase quiescente: se dice del hueso en condiciones de reposo.
- b) Fase de activación: el primer fenómeno que tiene lugar es la activación de la superficie ósea previa a la reabsorción, mediante la retracción de las células bordeantes y la digestión de la membrana endóstica por la acción de las colagenasas. Al quedar expuesta la superficie mineralizada se produce la atracción de osteoclastos circulantes, procedentes de los vasos próximos.



- c) Fase de reabsorción: seguidamente, los osteoclastos comienzan a disolver la matriz mineral y a descomponer la matriz osteoide. Este proceso es acabado por los macrófagos y permite la liberación de los factores de crecimiento contenidos en la matriz, fundamentalmente el factor transformante del crecimiento- β (TGF- β), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor análogo a la insulina I y II (IGF-I y II).
- d) Fase de formación: simultáneamente en las zonas reabsorbidas se produce el fenómeno de agrupamiento de preosteoblastos, atraídos por los factores de crecimiento que se liberaron de la matriz que actúan como quimiotácticos y además estimulan su proliferación. Los preosteoblastos sintetizan una sustancia cementante sobre la que se va a adherir el nuevo tejido y expresan proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), responsables de la diferenciación. A los pocos días, los osteoblastos ya diferenciados van a sintetizar la sustancia osteoide que rellenará las zonas horadadas.
- e) Fase de mineralización: a los 30 días del depósito de osteoide comienza la mineralización, que finalizará a los 130 días en el hueso cortical y a 90 días en el trabecular. Y de nuevo empieza la fase de quiescente o de descanso.⁽⁸⁾

El balance entre la reabsorción y la formación óseas está bajo la influencia de una serie de factores interrelacionados entre sí, como son factores genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales y locales, que actúan relacionados entre sí. Y el efecto de todos ellos actúa sobre las células efectoras (osteoclastos y osteoblastos), poniendo en marcha mecanismos de señalización intracelular para llevar acabo la remodelación.⁽⁸⁾

Factores genéticos. Son determinantes muy importantes en el pico de masa ósea, ya que entre el 60 y el 80% de ésta se encuentra determinada.⁽⁸⁾

Factores mecánicos. Se cree que la acción muscular transmite al hueso una tensión que es detectada por la red de osteocitos incluida en el interior del fluido óseo. Estos



osteocitos producen mediadores como prostaglandinas, óxido nítrico y el IGF-I, que estimulan tanto su actividad como la de los osteoblastos y originan una mayor formación ósea. Y por el contrario, la falta de actividad muscular, el reposo o la ingravidez tienen un efecto deletéreo sobre el hueso, acelerando la reabsorción. ⁽⁸⁾

Factores nutricionales. Se necesita un mínimo de calcio para permitir la mineralización que la mayoría de los autores cifran en unos 1.200mg. diarios hasta los 25 años; después y hasta los 45 no debe ser inferior a 1 gr. y tras la menopausia debe ser por lo menos 1.500mg al día. ⁽⁸⁾

Factores hormonales. Las hormonas son mensajeros sistémicos que actúan a distancia de su lugar de producción (efecto endocrino), pero también regulan la síntesis y acción de los factores locales, que intervienen directamente en el metabolismo celular (efectos autocrino y paracrino). Las hormonas más importantes que intervienen en la fisiología ósea son: ⁽⁸⁾

- **Hormonas tiroideas:** poseen dos acciones contrapuestas sobre el hueso. En primer lugar, estimulan la síntesis de la matriz osteoide por los osteoblastos y su mineralización, favoreciendo la síntesis de IGF-I. En segundo lugar, se produce un efecto contrario, estimulando la reabsorción al aumentar el número y función de los osteoclastos.
- **Parathormona (PTH):** es la hormona que controla la homeostasis del calcio a través de la acción directa sobre el hueso y el riñón e indirecta en el intestino. Producida en las glándulas paratiroideas, en las células principales, y responden al descenso de la calcemia. No obstante, en los últimos años se ha descubierto un papel estimulador en la formación ósea, a través de la síntesis de IGF-I y el TGF- β . Este doble efecto de reabsorción y formación se explicaría porque la PTH en administración continua estimularía la reabsorción ósea a través de la síntesis de un factor favorecedor de la osteoclastogénesis (RANKL) por parte de las células osteoblásticas, mientras que a dosis



intermitentes estimularía la formación de hueso, asociado a un incremento de los factores de crecimiento y a una disminución de la apoptosis de los osteoblastos.

- Calcitonina: producida en las células C o parafoliculares de la tiroides, es inhibidora de la reabsorción ósea, al reducir el número y la actividad de los osteoclastos.
- 1,25(OH)₂ vitamina D₃ o calcitriol: hormona esteroidea que favorece la absorción intestinal de calcio y fósforo y, por tanto, la mineralización ósea. Puede ser producida por células linfocíticas o monocíticas del hueso, ejerciendo un papel importante como regulador local de la diferenciación de los osteoclastos. En estudios recientes se han descubierto receptores para vitamina D₃ en células progenitoras de osteoclastos, no así en osteoclastos maduros. Por lo que experimentos in Vitro han demostrado que estimula la diferenciación de osteoclastos a partir de sus precursores monocitos o macrófagos. Así mismo acelera la maduración de osteoclastos y activa la resorción ósea realizada por osteoclastos maduros in vivo e in vitro. De esta manera se demuestra que el calcitriol es importante en el proceso de remodelación ósea, ya que promueve la mineralización del hueso y sin embargo, también promueve la reabsorción ósea.
- Andrógenos: tienen un efecto anabolizante sobre el hueso, a través del estímulo de los receptores de los osteoblastos. Asimismo, actúan de mediadores en el pico de la hormona de crecimiento (GH), existente en la pubertad. Mientras que la deficiencia androgénica se asocia a una menor densidad ósea.
- Estrógenos: tienen un doble efecto sobre el metabolismo óseo; por un lado favorecen la formación ósea al aumentar el número y función de los osteoblastos y por otro lado, disminuyen la reabsorción. Se han descrito receptores de estrógenos en osteoblastos, osteocitos y osteoclastos humanos. Investigaciones recientes han comprobado que los estrógenos pueden aumentar los niveles de osteoprotegerina (OPG), proteína producida por los osteoblastos que inhibe la reabsorción, por lo que podrían jugar un papel importante en la regulación de la osteoclastogénesis. Es por esto que la deficiencia de estrógenos durante la menopausia constituye el factor patogénico más importante de la pérdida ósea asociada a la osteoporosis. ⁽⁸⁾



- Progesterona: es igualmente anabolizante sobre el hueso, bien directamente, a través de los osteoblastos, que poseen receptores para la hormona o bien de forma indirecta, mediante la competición por los receptores osteoblásticos de los glucocorticoides.
- Insulina: estimula la síntesis de la matriz directa e indirectamente, a través del aumento de la síntesis hepática de IGF-I.
- Glucocorticoides: a dosis altas tienen efectos catabólicos sobre el hueso, ya que inhiben la síntesis de IGF-I por los osteoblastos, y suprimen directamente la proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2) y el factor básico obligatorio alfa-1 (Cbfa1), factores críticos para la osteoblastogénesis. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que a dosis fisiológicas tienen capacidad osteogénica favoreciendo la diferenciación osteoblástica.
- Hormona de crecimiento (GH): tiene dos acciones sobre el hueso, directa e indirecta. La GH actúa directamente sobre los osteoblastos, con receptores para la hormona, estimulando su actividad, lo que produce un aumento en la síntesis de colágeno, osteocalcina y fosfatasa alcalina. La acción indirecta se produce a través del aumento de la síntesis de IGF-I y II por los osteoblastos. Estos factores favorecen la proliferación y diferenciación de los osteoblastos, aumentando su número y función.⁽⁸⁾

Factores locales. El remodelado óseo también está regulado por factores locales, entre los que destacan los factores de crecimiento, las citoquinas y recientemente se han implicado las proteínas de la matriz ósea, como moduladoras de la acción de otros factores locales. Las células del hueso también juegan un papel importante por la producción de prostaglandinas y óxido nítrico, así como de citoquinas y factores de crecimiento.⁽⁸⁾

Factores de crecimiento. Son polipéptidos producidos por las propias células óseas o en tejidos extra-óseos, que actúan como moduladores de las funciones celulares, fundamentalmente sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación celular.⁽⁸⁾



- IGF-I y II: los factores de crecimiento análogos a la insulina son polipéptidos similares a esta hormona sintetizados por el hígado y los osteoblastos. Se hallan en gran concentración en la matriz osteoide. Incrementan el número y función de los osteoblastos, favoreciendo la síntesis de colágeno. Circulan unidos a proteínas de unión-IGF (IGFBP) que a su vez pueden ejercer efectos estimulatorios o inhibitorios sobre el hueso. Los IGFs están regulados por hormonas y factores de crecimiento locales; así la GH, los estrógenos y la progesterona aumentan su producción, mientras que los glucocorticoides la inhiben. Asimismo, median en la interacción osteoblasto-osteoclasto e intervienen de forma activa en el remodelado óseo.
- Factor estimulante de las colonias monocito/macrófagos (GM-CSF): este factor es importante para la osteoclastogénesis y puede intervenir en la patogenia de la osteoporosis.
- Factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF): este factor es producido por los osteoblastos y células del estroma medular y es requerido como factor esencial en las primeras fases de la osteoclastogénesis para la formación de células gigantes multinucleadas, pero no tiene efecto sobre la actividad osteoclástica.
- Factor de necrosis tumoral (TNF): este factor *in Vitro*, estimula la reabsorción y se le ha relacionado con la pérdida ósea de la artritis y de la enfermedad periodontal.⁽⁸⁾

Proteínas de la matriz. Recientemente se ha descubierto que las proteínas de la matriz actúan como moduladores de los factores de crecimiento. Hay que tener en cuenta que las proteínas de la matriz se hallan a una concentración mil veces mayor que los factores de crecimiento, por lo que podrían jugar un papel más importante en la regulación de las diferentes funciones celulares. Por otro lado, estas proteínas de la matriz también participan en la regulación de la diferenciación de las células contenidas en la matriz. Por ejemplo el colágeno I es uno de los marcadores más tempranos que regulan las células osteoprogenitoras y la fosfatasa alcalina es una proteína de superficie que podría participar en la regulación de la proliferación, migración y diferenciación de las células osteoblásticas.⁽⁸⁾



Citocinas. Son polipéptidos sintetizados en células linfocíticas y monocíticas que juegan un papel importante en múltiples funciones celulares, como en la respuesta inmunológica, la inflamación y la hematopoyesis, con un efecto autocrino y paracrino. Las citocinas producidas por los linfocitos se conocen como linfocinas, muchas de ellas por su acción sobre diversos leucocitos se denominan interleucinas, de las cuales hasta el momento se han descrito 18. En el hueso son importantes las siguientes: ⁽⁸⁾

- Interleucina 1 (IL-1): estimula directamente la reabsorción osteoclástica, incrementando la proliferación y diferenciación de los pre-osteoclastos así como la actividad osteoclástica e inhibiendo la apoptosis de los osteoclastos. En realidad son 3 moléculas diferentes relacionadas: IL-1 α , IL-1 β y antagonista del receptor de IL-1, siendo esta última inhibidora del efecto de las dos primeras. Su acción sobre la reabsorción es directa e indirecta, a través de la síntesis de prostaglandinas.
- Interleucina 6 (IL-6): estimula la reabsorción ósea. Se cree que juega un papel importante en las etapas iniciales de la osteoclastogénesis. Se produce en respuesta a PTH, IL-1 y 1,25(OH) 2D3.
- Interleucina 11 (IL-11): de reciente descubrimiento, se produce en la médula ósea e induce la osteoclastogénesis.
- Prostaglandinas (PG): *in vitro* favorecen la reabsorción ósea, fundamentalmente la PGE2, pero también la PGE1, PGG2, PGI2 y PGH2. Estudios *in vivo*, midiendo los niveles de prostaglandinas en el líquido crevicular, han demostrado su participación en la destrucción ósea que tiene lugar en la enfermedad periodontal. ⁽⁸⁾

En la regulación del fenómeno de remodelación es de gran importancia el sistema RANK-RANKL-OPG. El RANK (*Receptor for Activation of Nuclear Factor κ B [NF κ B]*) es un receptor de la familia del TNF presente en los osteoclastos, al que se une el RANKL (o ligando del RANK, de la familia del TNF presente en la membrana de las células de estirpe osteoblasto/estroma medular. Como consecuencia de dicha unión, aumenta la proliferación y actividad de los osteoclastos, al tiempo que disminuye su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es un receptor osteoblástico, miembro también de la familia TNF-R, carente



de dominio transmembranal, que por ello, es secretado al exterior. Su ligando es el propio RANKL, de manera que puede decirse que se interpone entre él y el RANK, con lo que impide su puesta en contacto (se comporta como un receptor “señuelo” o “trampa”). Es decir, el osteoblasto produce tanto el activador de los osteoclastos como una sustancia que neutraliza dicho activador. En general, los mismos factores que estimulan uno, inhiben el otro. En definitiva, lo que determina la cantidad de hueso a resorber es la relación RANKL/OPG. Las células T expresan RANKL, del que pueden segregar una forma soluble.⁽⁹⁾

El sistema RANK-RANKL-OPG se considera en gran medida la vía final común de numerosos factores reabsortivos. La PTH, el 1,25(OH)₂ Vitamina D₃, las hormonas tiroideas, la IL-1, el TNF- α , la IL-6, la PGE₂, la IL-11, aumentan la relación RANKL/OPG; los estrógenos desarrollan el efecto contrario.⁽¹⁰⁾

El RANK activa diversas vías de señalización intracelular. El paso clave inicial en la actuación del RANK es la unión de los TRAF (factores citoplasmáticos asociados al TNF-R) a lugares específicos de su dominio intracelular. El 6 es el mejor conocido, y actúa como un adaptador para la unión de diversas proteínas de señalización.⁽⁹⁾

El osteoblasto produce, además del RANKL, otra sustancia necesaria para la osteoclastogénesis, el M-CSF, que se une a su receptor presente en los precursores de los osteoclastos. La presencia simultánea de RANKL y M-CSF se considera suficiente para inducir la formación de osteoclastos. Pero hoy se sabe que también deben activarse inmunorreceptores vinculados a moléculas adaptadoras que contengan en su cola citoplasmática el motivo ITAM. Los receptores son el TREM2 (*triggering receptor expressed on myeloid cells*) y el OSCAR (*osteoclast-specific activating receptor*), y las moléculas adaptadoras a que están vinculados son la DAP12 (*DNAX activating protein*) y la Fc γ (*Fc receptor common gamma chain*). Los ligandos del TREM2 probablemente se encuentran en los propios osteoclastos activados, y los del OSCAR en los osteoblastos, aunque permanecen muchos aspectos por esclarecer en este campo. La coestimulación de la señalización ITAM y del RANK es indispensable para la inducción y activación del factor nuclear



de las células T activadas (NFAT) c1, el factor de transcripción principal en la osteoclastogénesis.⁽⁹⁾

VASCULARIZACIÓN E INERVACIÓN

Se sabe que la vascularización es fundamental para el normal desarrollo óseo, permitiendo el aporte de células sanguíneas, oxígeno, minerales, iones, glucosa, hormonas y factores de crecimiento. La vascularización constituye el primer paso para la osificación: los vasos sanguíneos invaden el cartílago y posteriormente se produce la reabsorción ósea por los osteoclastos, procedentes de los vasos próximos. Igualmente, la neoformación vascular es el primer hecho en el fenómeno de la reparación de fracturas o de la regeneración ósea, ya que la existencia de oxígeno es fundamental para que se produzca la regeneración ósea y no tejido fibroso. Ham, en 1952, constató este fenómeno, al observar que los osteocitos se mueren cuando están lejos de un capilar (la distancia máxima es de 0,1mm).⁽⁸⁾

La irrigación sanguínea de los procesos alveolares proviene de la arteria maxilar y la arteria alveolar inferior, ramas de la arteria carótida externa. Éstas se desplazan de forma prácticamente recta por los tabiques alveolares interdientarios e interradiculares. Sus ramas terminales, denominadas arterias perforantes, atraviesan por numerosos forámenes la lámina compacta cribiforme y pasan al ligamento periodontal. Por los forámenes penetran venas, linfáticos y nervios desde el ligamento. Estos vasos y nervios están íntimamente relacionados con los que se originan en la región periapical desde el paquete vasculonervioso destinado a la pulpa dental. Por otra parte dan ramas que atraviesan la cortical perióstica y se anastomosan con el plexo vascular supraperióstico, de tal manera que se establecen profusas conexiones con los elementos vasculonerviosos de la encía y la mucosa bucal.⁽³⁾

También la inervación es necesaria para el funcionamiento óseo normal. La presencia de fibras nerviosas mielínicas y amielínicas se han documentado en las diferentes capas óseas y en la médula ósea. El grupo de fibras A y B son mielínicas y sus respectivos



diámetros incluyen el grosor de la vaina de mielina. El grupo A se subdivide en fibras α , β , γ y δ en orden descendente de tamaño. El grupo C son las más pequeñas con axones amielínicos; por lo que la relación matemática entre el diámetro y la velocidad son los mismos en ambos grupos. La velocidad de conducción de las fibras nerviosas está en función del diámetro del axón. En los axones amielínicos los impulsos se mueven a lo largo del mismo en la forma de ondas, dado que es una conducción continua, mientras tanto las señales en las fibras mielínicas son transmitidas mediante la conducción saltatoria, en la que los impulsos brincan de nodo de Ranvier a nodo de Ranvier.⁽¹⁰⁾

La velocidad de las señales de conducción en las fibras mielínicas se incrementa en directa proporción al diámetro de las fibras (Tabla 1). Mientras el incremento en la velocidad de conducción en fibras amielínicas es proporcional a la raíz cuadrada del diámetro axonal.⁽¹⁰⁾

TIPO	DIÁMETRO	VELOCIDAD	FUNCIÓN
A α	12- 22 m	70-120 m/s	Motor: propiocepción
- β	5-12 m	30-70 m/s	Sensorial: presión al tacto
- γ	3-6 m	15-30 m/s	Motor: huso muscular
- δ	2-5 m	12-30 m/s	Sensorial: dolor agudo
B	<3 m	3-15 m/s	Preganglionar autónomo
C	<2 m	0.5-2 m/s	Sensorial: dolor crónico postganglionar autónomo

Tabla 1. Clasificación de fibras motoras y sensoriales de acuerdo al diámetro.⁽¹⁰⁾

Se ha documentado que el hueso alveolar y periostio reciben inervación de fibras nerviosas autónomas.^(11,12) El sistema nervioso autónomo (SNA) es quien regula las funciones orgánicas involuntarias relacionadas con la homeostasis del medio interno. Las vías eferentes del SNA están formadas por dos neuronas: una preganglionar (mielínica) y otra posganglionar (amielínica). El soma de las neuronas preganglionares se encuentra dentro del sistema nervioso central, ya sea en la médula espinal o en el tronco del encéfalo. Sus axones hacen sinapsis sobre los cuerpos celulares de las neuronas posganglionares en los ganglios autónomos.⁽¹³⁾



El SNA se divide en dos partes: el sistema simpático, cuyas respuestas están más implicadas en aquellas que, desde el punto de vista metabólico, son consideradas de tipo catabólico; y el sistema parasimpático, cuya actividad está más en relación con las de tipo anabólico.⁽¹³⁾

El sistema nervioso simpático (SNS) se origina en la médula espinal. Los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares simpáticas, forman parte de las astas laterales de la sustancia gris de todos los segmentos torácicos y de los dos o tres primeros segmentos lumbares. Los axones preganglionares abandonan la médula espinal a través de la raíz anterior de un nervio raquídeo, junto con las fibras motoras somáticas del mismo nivel segmentario. A continuación, los axones preganglionares mielínicos (fibras de tipo B) entran en una vía corta denominada ramo comunicante blanco y terminan en los ganglios paravertebrales o en los prevertebrales.⁽¹³⁾

Los ganglios paravertebrales están conectados entre sí por fibras nerviosas formando los ganglios de la cadena simpática, que se encuentra a ambos lados de la médula espinal, y se extienden desde la base del cráneo hasta el cóccix. Cada cadena dispone en general de un ganglio por cada uno de los segmentos medulares. En la región cervical, los ganglios están fusionados en tres: superior, medio e inferior o estrellado. Los ganglios prevertebrales están situados anteriores a la columna vertebral y cerca de las grandes arterias abdominales. Así, tenemos los ganglios celíacos, situados a cada lado del tronco celíaco, justo por debajo del diafragma; los mesentéricos superiores (región superior del abdomen), y los mesentéricos inferiores (región media del abdomen). Como los ganglios se encuentran cerca de la médula espinal, los axones preganglionares son cortos. Cuando las fibras preganglionares llegan a los ganglios de la cadena paravertebral, la mayoría hacen sinapsis en ellos, ya sea al mismo nivel o dirigiéndose en sentido caudal o cefálico, siguiendo la cadena simpática para establecer sinapsis con un ganglio de otro segmento.⁽¹³⁾



Finalmente, los axones posganglionares se componen de fibras amielínicas (fibras tipo C) que se originan en las neuronas cuyos somas están situados en los ganglios simpáticos. Las fibras posganglionares poseen varicosidades a lo largo de toda su extensión, las cuales liberan neurotransmisores al espacio extracelular adyacente a las células diana u órgano efector, el cual se unirá a un receptor específico localizado en su membrana. Los principales neurotransmisores liberados por las neuronas del SNA son la acetilcolina (ACh) y la noradrenalina (NA). Por lo que las fibras que sintetizan NA se llaman adrenérgicas y las que sintetizan ACh, colinérgicas. ⁽¹³⁾

Todas las neuronas preganglionares del SNA son neuronas colinérgicas. Por lo tanto, la ACh estimula a las neuronas posganglionares tanto del sistema nervioso simpático como del parasimpático. En cuanto a las neuronas posganglionares, las del sistema parasimpático son colinérgicas, mientras que las del sistema simpático son mayoritariamente adrenérgicas. La NA se sintetiza en las terminaciones nerviosas adrenérgicas a partir de la tirosina hidroxilasa (TH) y se almacena en vesículas dentro de la terminal nerviosa. ⁽¹³⁾

Sus receptores se denominan adrenérgicos y se conocen dos tipos principales: receptores alfa y beta. Se han descrito subgrupos de receptores alfa (receptores alfa-1 y alfa-2) y dos subgrupos de receptores beta (beta-1 y beta-2). La NA tiene mayor efecto sobre los receptores alfa que sobre los receptores beta. Como regla general, los sitios receptores alfa se asocian con la mayoría de las funciones excitadoras del sistema simpático (p. ej., contracción del músculo liso, vasoconstricción, diaforesis), mientras que los sitios receptores beta se asocian con la mayoría de las funciones inhibitoras (p. ej., relajación del músculo liso). ⁽¹⁴⁾

La acción de la NA sobre el sitio receptor de la célula efectora termina con su recaptación en la terminación nerviosa, donde es almacenada en vesículas presinápticas para ser reutilizada. Algo de la NA escapa de la hendidura sináptica hacia la circulación general y ulteriormente es metabolizada en el hígado. ⁽¹⁴⁾



Existe en el SNA cotransmisión, esto es, coexistencia de transmisores del mismo o de distinto tipo en las terminaciones neurales. Así la ACh, coexiste con el péptido intestinal vaso activo (VIP) en la mayoría de las sinapsis posganglionares parasimpáticas, y el neuropéptido Y (NPY) lo hace con la noradrenalina en la mayoría de las sinapsis posganglionares simpáticas. En los ganglios simpáticos la NA coexiste en función de las neuronas, con NPY, dinorfina, somatostatina o encefalina, mientras que en las terminales preganglionares se observa coexistencia de ACh con el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y sustancia P (SP).⁽¹⁵⁾

Numerosos órganos efectores están inervados por ambas divisiones del SNA. En muchos casos, los sistemas simpático y parasimpático realizan acciones opuestas, de modo que la acción de ambos sistemas proporciona un control fino y preciso sobre las funciones de las viseras. En la tabla 2 se resumen los efectos de la activación de las divisiones simpática y parasimpático del SNA en diversos órganos.⁽¹³⁾

ÓRGANO	EFECTOS DE LA ACTIVACIÓN SIMPÁTICA	EFECTOS DE LA ACTIVACIÓN PARASIMPÁTICA
Ojo	Dilatación pupilar,	Contracción pupilar,



	relajación del músculo ciliar.	contracción del músculo ciliar.
Glándula lagrimal	Vasoconstricción y secreción escasa.	Secreción de lágrimas.
Glándulas salivales	Vasoconstricción, secreción de líquido viscoso.	Vasodilatación y secreción abundante de saliva.
Corazón	Aumento de la frecuencia cardíaca y de la fuerza de contracción.	Disminución de la frecuencia cardíaca. Sin efecto sobre la de la fuerza de contracción.
Vasos sanguíneos	Principalmente vasoconstricción, vasodilatación en el músculo esquelético.	Sin efecto.
Pulmones	Broncodilatación a través de la adrenalina circulante.	Broncoconstricción, secreción de moco.
Hígado	Glucogenólisis, glucogénesis y liberación de glucosa en la sangre.	Sin efecto en el hígado, pero incremento de la evacuación de bilis por la vesícula biliar.
Médula suprarrenal	Secreción de adrenalina y noradrenalina.	Sin inervación.
Tracto gastrointestinal	Disminución de la motilidad y de la secreción, constricción de esfínteres, vasoconstricción.	Aumento de la motilidad y la secreción, relajación de esfínteres.
Riñones	Vasoconstricción y disminución de orina.	Sin efecto.
Vejiga urinaria	Inhibición de la micción.	Inicio de la micción.
Genitales	Eyacuación.	Erección.
Glándulas sudoríparas	Secreción de sudor por parte de las glándulas ecrinas.	Sin inervación.
Folículos pilosos	Piloerección.	Sin efecto.

Tabla 2. Principales efectos de la estimulación simpática y parasimpático en diversos sistemas orgánicos. ⁽¹³⁾

MODELOS DE DENERVACIÓN SIMPÁTICA

Una manera para abordar el estudio del papel que tiene la información neural es mediante su eliminación quirúrgica o farmacológica (denervación). Una de las regiones



anatómicas utilizadas para examinar los efectos agudos y crónicos de la denervación simpática a nivel bucal, es el ganglio cervical superior (GCS). El GCS se sitúa posterior a la arteria carótida interna y superior a la vena yugular interna en su extremo inferior, anterior a la primera, segunda y tercera vértebras cervicales. Normalmente este ganglio termina aproximadamente 2cm inferior al conducto carotídeo, y desciende hasta la altura del ángulo de la mandíbula.⁽¹⁶⁾

En términos generales, el músculo liso de arterias y arteriolas, venas y venulas es inervado por fibras simpáticas. Las fibras posganglionares inervan a los vasos sanguíneos adyacentes, forman plexos periarteriales o se unen a un nervio para distribuirse en la periferia de los vasos de menor calibre. Se sabe que todos los nervios periféricos reciben fibras postganglionares de la cadena simpática, con excepción de los pares craneales primero, segundo y octavo, relacionados con los órganos de los sentidos.⁽¹⁷⁾

Los axones postganglionares que emergen del GCS inervan la cabeza y el corazón. De la parte superior de este ganglio sale el nervio de la carótida interna; asciende con ella hacia el conducto carotídeo (ubicado en el hueso temporal), se divide para abrazar los lados internos y externos de la arteria y se descompone al formar el plexo carotídeo interno alrededor del vaso en el seno cavernoso. De este plexo envía fibras a los nervios craneales y se continúa por la arteria oftálmica y la arteria cerebral anterior y media. Los nervios craneales que reciben fibras directamente de la porción interna de este plexo son los nervios motor ocular común, patético, motor ocular externo y la rama oftálmica del trigémino. La porción externa del plexo suministra fibras para el ganglio de Gasser y sus ramas maxilar superior y maxilar inferior, también emite el nervio petroso mayor profundo mayor, que se une al nervio petroso superficial mayor, rama del facial (formando el nervio vidiano), y finalmente emite el nervio caroticotimpánico para el plexo timpánico del oído medio formando el nervio de Jacobson, rama del glossofaríngeo.⁽¹⁷⁾

De la cara anterior del GCS salen fibras que van a la carótida primitiva y a la carótida externa, distribuyéndose por sus ramas. Y de la porción lateral de este ganglio salen

fibras directas para el hipogloso y el ganglio plexiforme del vago. Emite el nervio yugular que distribuye ramos para el ganglio superior del vago y el ganglio petroso del glossofaríngeo. (17)

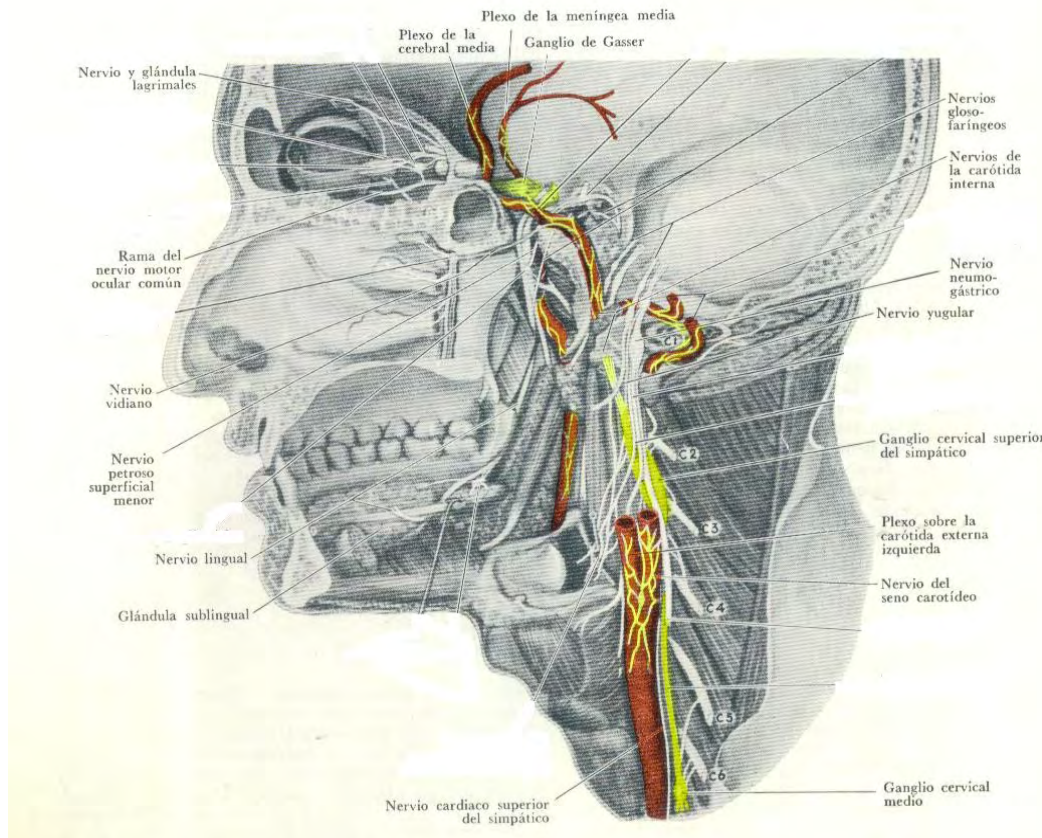


Figura 1. Inervación simpática en cabeza y cuello. (17)

En los humanos las fibras de GCS se distribuyen en el músculo liso del ojo, vasos sanguíneos de la cara, glándulas lagrimales, mucosa nasal, corazón y glándulas submandibular, sublingual y la parótida. En el ojo, las fibras postganglionares causan dilatación pupilar y relajación del músculo ciliar. Estas fibras llegan a la órbita a lo largo de las arterias carótida interna y oftálmica, pasan sin interrupción a través del ganglio ciliar y alcanzan el globo ocular en los nervios ciliares cortos. Otras fibras simpáticas alcanzan el globo ocular en los nervios ciliares largos. (14)



La inervación vasoconstrictora simpática de la glándula lagrimal viaja en el plexo de nervios que rodean la arteria carótida interna. Se unen con el nervio petroso profundo, el nervio del conducto pterigoideo, el nervio maxilar, el nervio cigomático y el nervio cigomáicotemporal y, finalmente, el nervio lagrimal. ⁽¹⁴⁾

Otras fibras postganglionares alcanzan las glándulas salivales submandibular y sublingual como un plexo de nervios alrededor de las arterias carótida externa, facial y lingual. Y las fibras que llegan a la glándula parótida llegan como un plexo de nervios alrededor de la arteria carótida externa. Funcionan como fibras vasoconstrictoras. ⁽¹⁴⁾

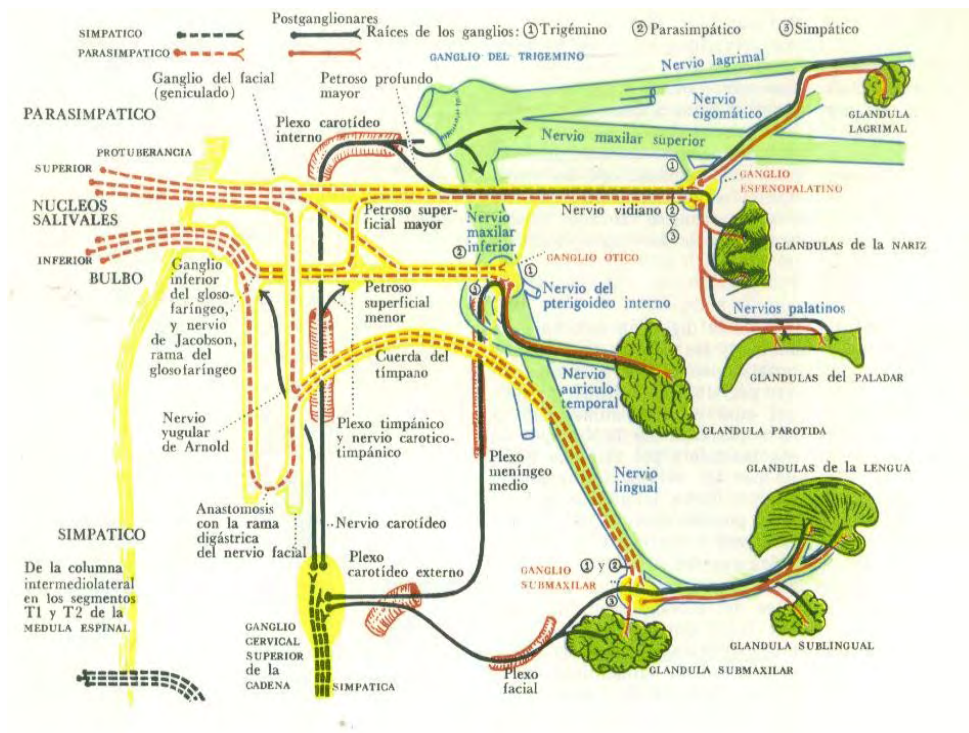


Figura 2. Esquema de la inervación simpática en las glándulas de la cabeza. ⁽¹⁷⁾

Se ha descrito que la inervación simpática del órgano dental deriva también de este ganglio. ^(18, 19) Sus fibras posganglionares viajan con el nervio de la carótida interna, ingresan a la cavidad craneana por el conducto carotídeo, hacen contacto con el ganglio de Gasser (V par craneal) y se distribuyen en el diente y estructuras de soporte a través de la división mandibular y maxilar del nervio trigémino. ^(17, 20, 21) Los nervios simpáticos



entran en la pulpa vía el foramen apical, y forman un plexo alrededor de los vasos sanguíneos. Sin embargo, algunas fibras simpáticas que aparecen en la pulpa dental no tienen relación aparente con los vasos sanguíneos. Las fibras nerviosas son más numerosas en la pulpa radicular que en la coronal. En el ligamento periodontal, las pocas fibras simpáticas son localizadas principalmente en el tercio apical y en el hueso alveolar se presentan en la médula ósea, principalmente alrededor de los vasos sanguíneos.⁽²²⁾

Mediante estudios de inmunohistoquímica se ha demostrado la presencia de neurotransmisores y neuropéptidos localizados en los nervios del periostio del hueso alveolar, entre ellos VIP, NPY, TH, SP y CGRP. Estos neuropéptidos que se han implicado como mediadores de la formación y resorción ósea, y pueden estar implicados en la regulación local del metabolismo óseo.⁽²⁾

En la rata, las fibras posganglionares del GCS se agrupan en tres regiones principales: 1) grupo rostral, que proyecta nervios vía la carótida interna (cerca del 35% de las neuronas del GCS); 2) grupo medio, que proyecta nervios vía la carótida interna (50% de las neuronas del GCS); y 3) grupo caudal, que manda proyecciones descendentes a través del tronco simpático cervical (cerca del 15% de las neuronas del GCS).⁽²³⁾

Con el objeto de analizar la participación de la inervación autónoma en el metabolismo del hueso, se han realizado experimentos que emplean la denervación quirúrgica y química. La extirpación quirúrgica del GCS demuestra una interrupción de las vías nerviosas aferente y eferente en las estructuras anatómicas inervadas por él. Este procedimiento se realiza a través de una incisión vertical, sobre la superficie ventral del cuello, adyacente a la línea media. El ganglio es localizado en el área dorsal de la bifurcación de la arteria carótida y es removido quirúrgicamente.⁽²⁴⁾

La simpatectomía química se realiza a través del tratamiento con guanetidina (GD), que ha demostrado realizar una destrucción selectiva de nervios periféricos simpáticos. Las fibras simpáticas que se encuentran en el hueso alveolar⁽²⁾ son sensibles a la GD.⁽²⁵⁾ La



GD es un derivado de la guanidina, un bloqueador de neuronas simpáticas. Es incorporada por los axones noradrenérgicos a través de la bomba de recaptura de catecolaminas y almacenada dentro de vesículas, las cuales pueden ser liberadas posteriormente por la llegada de un estímulo nervioso, de esta forma actúa como un falso neurotransmisor. Una vez dentro de la neurona noradrenérgica, la GD induce depleción de la noradrenalina almacenada. Se sabe que este fármaco afecta a los organelos de la neurona; produce daño mitocondrial como uno de los eventos relativamente tempranos en respuesta a su administración. Además se observan otros cambios ultraestructurales en las neuronas, como dilatación del retículo endoplásmico, disminución o ausencia de ribosomas libres, localización excéntrica del núcleo y desarrollo irregular de la forma de la membrana nuclear. Más tarde, este fármaco induce la degeneración axonal, desaparición de la neurona y proliferación de células gliales y satélite. En las neuronas del GCS, provoca el rompimiento de las vainas de mielina.⁽²⁶⁾

Manning y col., (1983) mostraron en la rata, que en la destrucción de la neurona simpática con GD está involucrado un mecanismo autoinmune. Ellos observaron en el GCS, de ratas machos prepúberes denervadas químicamente, el típico infiltrado celular, disminución de la actividad de la tirosina hidroxilasa y destrucción neural.⁽²⁷⁾ Este grupo de investigadores han planteado la hipótesis de que este fármaco induce la expresión de una proteína o glicoproteína, la cual no se encuentra normalmente en la membrana plasmática de la neurona, de tal manera que esta molécula resulta ser reconocida por el sistema inmunológico como extraña (antigénica), lo que desencadena una respuesta inmunológica y por ende la destrucción de la neurona. Sin embargo, aún se desconoce exactamente todo el mecanismo celular y molecular involucrado en la acción de la GD.⁽²⁶⁾ Diversos estudios han mostrado que la administración de GD en las ratas, provoca disminución en las concentraciones de NA de casi todos los ganglios simpáticos periféricos y estructuras inervadas por éstos: como el iris, corazón, vena mesentérica, arteria femoral, vejiga, nervio ciático, nervio vago y GCS.⁽²⁶⁾

PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN SIMPÁTICA EN EL METABOLISMO ÓSEO.



Recientemente se han mostrado evidencias que demuestran que la inervación simpática tiene un efecto en la remodelación ósea. Shandu y col. (1987), fueron los primeros en examinar los efectos de una gangliotomía unilateral del GCS, en la remodelación ósea en los alveolos de molares e incisivos de ratas. Después de la simpatectomía, la aposición endotelial y periostal, así como el índice de mineralización disminuyó y aumentó el número de osteoclastos activando y desactivando la resorción ósea en las superficies observadas.⁽²⁸⁾ Estos autores sugieren que las neuronas simpáticas modulan la resorción ósea.

Hill y col. (1991) mostraron que la denervación con GD, realizada en la etapa neonatal, resulta en una disminución de las fibras simpáticas y en un incremento de la resorción ósea en la mandíbula, mientras que la denervación sensorial inducida con capsaicina, un neurotóxico de fibras nerviosas sensoriales, provoca en la etapa púber una reducción de fibras inmunoreactivas a CGRP y SP, efecto que se acompaña con una disminución en la resorción ósea.⁽²⁹⁾ Estos resultados les permite sugerir a los autores que la inervación sensorial y simpática juegan un papel importante en la remodelación ósea.

Contrariamente, Cherruau y col. (1999) encontraron en sus estudios disminución en la resorción ósea cuando la GD era administrada en ratas adultas. Mostraron que la denervación afectó la resorción ósea, perjudicando el reclutamiento de los precursores de osteoclastos y la activación de los osteoclastos.⁽¹⁾ Estos autores sugieren que la disminución de los mediadores simpáticos pueden alterar a las células osteogénicas, sirviendo de intermediarios para la diferenciación de los osteoclastos.

Sin embargo, investigadores como Ladizesky y col. (2000), evidencian que los nervios simpáticos afectan la masa mineral del hueso. Señalaron que tras una gangliotomía cervical superior, las mandíbulas de ratas prepúberes, presentaban un contenido y una densidad mineral ósea perceptiblemente bajas. Ellos sugieren que la simpatectomía regional causa alteraciones cualitativas en la modelación y remodelación ósea, que conducen a la resorción del hueso.⁽³⁰⁾



Por otro lado, también se ha observado que en las ratas adultas, la simpatectomía provocó un aumento del número de osteoclastos en lesiones periapicales grandes.⁽³¹⁾ Un estudio realizado por Bletsa y col. (2004), mostró en ratas adultas que las lesiones periapicales y pulpares seguida por la simpatectomía quirúrgica unilateral del GCS provocan un incremento de IL-1 α y TNF- β , citocinas pro-inflamatorias relacionadas con la actividad osteoclástica; en contraste con el lado no denervado, donde se observaron bajos niveles de estas citocinas.⁽²⁴⁾ Este estudio evidencia que las fibras nerviosas simpáticas pueden directamente afectar la producción de estas citocinas.

Con base en estos antecedentes, utilizando como modelo de estudio la rata denervada *in útero* con guanetidina, se decidió estudiar la participación de la inervación neuropeptidérgica presente desde la etapa fetal, sobre los eventos que inducen la remodelación ósea.



OBJETIVO GENERAL

Analizar la participación de la inervación simpática, tras una denervación fetal inducida con guanetidina, en el hueso alveolar mandibular de las ratas prepúberes sacrificadas al primer estro vaginal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❑ Analizar los efectos del tratamiento con guanetidina sobre la superficie ósea alveolar del primer molar mandibular.
- ❑ Medir el área de la superficie alveolar del primer molar mandibular en las caras mesial, interradicular y distal.
- ❑ Medir el área trabecular del hueso alveolar en las superficies mesial, interradicular y distal del primer molar mandibular.
- ❑ Cuantificar el número de osteoblastos en las superficies mesial, interradicular y distal del hueso alveolar del primer molar mandibular.
- ❑ Cuantificar el número de osteoclastos en las superficies mesial, interradicular y distal del hueso alveolar del primer molar mandibular.



HIPÓTESIS

Existen evidencias inmunohistoquímicas que muestran en el osteoblasto y osteoclasto la presencia de receptores a neurotransmisores simpáticos, lo que permite sugerir que en el metabolismo óseo existe una regulación neural. Por lo tanto, la eliminación de fibras simpáticas afectará la remodelación ósea del primer molar mandibular.



DISEÑO METODOLÓGICO

TIPO DE ESTUDIO	Experimental.
UNIVERSO DE ESTUDIO	Ratas hembras prepúberes tratadas durante la etapa fetal con guanetidina.
MUESTRA	Aleatoria, para lo cual se formaron 2 grupos de 10 ratas hembras cada uno. <ul style="list-style-type: none">□ Grupo 1. Testigo absoluto.□ Grupo 2. Al cual se le inyectó guanetidina (20 mg/kg) intraperitonealmente (i.p.) entre las 9:00 y las 10:00 hrs de los días 13, 15, 17 y 20 de preñez.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión. Aquellos animales hembras que fueron tratadas en la etapa fetal con guanetidina.

Criterios de exclusión. En los cortes histológicos se excluyeron las laminillas en las cuales no se encontró el primer molar inferior.

Criterios de eliminación. Cortes histológicos en los cuales se perdió parte del tejido durante su elaboración.



VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

VARIABLE	DEFINICIÓN TEÓRICA	DEFINICIÓN OPERATIVA	CLASIFICACIÓN	CATEGORÍA
EDAD	Periodo transcurrido desde el nacimiento.	Cuando los animales presentaron canalización vaginal (parámetro que marca el inicio de la pubertad en la rata).	CUANTITATIVA CONTINUA	PREPÚBER
GÉNERO	Grupo taxonómico de especies que poseen uno o varios caracteres comunes.	Ratas con características al sexo femenino. La distancia ano-genital es más corta en las hembras que en los machos.	CUALITATIVA NOMINAL	HEMBRAS
DOSIS DE GUANETIDINA	Neurotóxico. Es un derivado de la guanidina, un bloqueador de neuronas simpáticas.	Las ratas preñadas fueron inyectadas i.p. entre las 9:00 y las 10:00 hrs. de los días 13, 15, 17, y 20 de preñez con GD (20 mg/kg).	CUANTITATIVA CONTINUA	RATAS PREÑADAS
GRUPO TESTIGO ABSOLUTO	Ratas prepúberes con características al sexo femenino.	No recibieron ningún tratamiento.	_____	_____



VARIABLES DEPENDIENTES

VARIABLE	DEFINICIÓN TEÓRICA	DEFINICIÓN OPERATIVA	CLASIFICACIÓN	CATEGORÍA
NÚMERO DE OSTEÓCLASTOS	Células grandes multinucleadas, presentes en los sitios donde ocurre resorción ósea, forman cavidades que se conocen como lagunas de Howship.	Se cuantificó el número de osteoclastos en el hueso alveolar del primer molar inferior derecho mandibular a nivel mesial, interradicular y distal con el microscopio óptico.	CUANTITATIVA DISCRETA	HUESO ALVEOLAR DEL LADO MESIAL, INTERRADICULAR Y DISTAL
NÚMERO DE OSTEÓBLASTOS	Células osteoformadoras Se caracterizan por su forma cuboide o poliédrica y su distribución monoestratificada en la superficie ósea.	Se cuantificó el número de osteoblastos en el hueso alveolar del primer molar inferior derecho mandibular a nivel mesial, interradicular y distal con el microscopio óptico.	CUANTITATIVA DISCRETA	HUESO ALVEOLAR DEL LADO MESIAL, INTERRADICULAR Y DISTAL



VARIABLES DEPENDIENTES

VARIABLE	DEFINICIÓN TEÓRICA	DEFINICIÓN OPERATIVA	CLASIFICACIÓN	CATEGORÍA
ÁREA DE SUPERFICIE ÓSEA DENSA	Extensión limitada al tejido óseo compacto o hueso de inserción.	Se midió el área de superficie ósea densa del hueso alveolar del primer molar inferior derecho mandibular a nivel mesial, interradicular y distal con el analizador de imágenes Motic Advance.	CUANTITATIVA CONTINUA	ÁREA DEL HUESO ALVEOLAR DEL LADO MESIAL, INTERRADICULAR Y DISTAL
ÁREA DE SUPERFICIE TRABECULAR	Extensión limitada al tejido óseo esponjoso o medular.	Se midió el área de superficie trabecular del hueso alveolar del primer molar inferior derecho mandibular a nivel mesial, interradicular y distal con el analizador de imágenes Motic Advance.	CUANTITATIVA CONTINUA	ÁREA DEL HUESO ALVEOLAR DEL LADO MESIAL, INTERRADICULAR Y DISTAL

VARIABLES EXTRAÑAS. Otros reguladores del remodelado óseo como los factores: genéticos, mecánicos, nutricionales, hormonales y locales, que no fueron evaluados y que pudieron influir en los resultados del presente estudio.



METODOLOGÍA GENERAL

Se utilizaron ratas hembras vírgenes de la cepa CII ZV, de tres meses de edad mantenidas en condiciones convencionales de bioterio, 14 hrs de luz (5:00 a 19:00) y 10 hrs de oscuridad, agua y alimento *ad libitum*. En el día del proestro se colocó con un macho de fertilidad comprobada y la presencia de espermatozoides en la vagina se consideró como día 1 de preñez. Las ratas preñadas fueron inyectadas intraperitonealmente (i.p.) entre las 9:00 y las 10:00 hrs. de los días 13, 15, 17 y 20 de preñez con GD (20 mg/kg). Se registró la fecha del parto y en cada caja se dejaron con la madre 6 crías hembras y un macho hasta el destete (día 21) o hasta el día de su sacrificio según fue el caso. Una vez inyectados los animales se integraron a su camada. Finalmente un grupo más de animales no recibieron ningún tratamiento y sirvieron como grupo testigo absoluto.

Cuando los animales presentaron canalización vaginal (parámetro que marca el inicio de la pubertad en la rata) se les realizó frotis vaginal diario y se sacrificaron en la mañana del primer estro. Los animales fueron sacrificados por decapitación; a la autopsia se disecaron y se pesaron las mandíbulas en una balanza de precisión.

Para el análisis morfométrico la mandíbula derecha de los animales de cada grupo experimental se fijaron en formol al 10%, se incluyeron en parafina (de la marca laboratorio del Río S.A.), se realizaron cortes seriados a 20 μ m y se tiñeron con hematoxilina-eosina. La medición se realizó con un analizador de imágenes (Motic imagenes Group Co. LTD).



TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

Fijación y descalcificación del tejido.

- 1) Se fijaron en formol al 10%, por 24 horas.
- 2) Se lavó con agua corriente, por 10 minutos.
- 3) Se colocaron en solución de ácido clorhídrico al 10% y se dejaron por 48 horas, a la temperatura ambiente.
- 4) Se lavó abundantemente con agua corriente por 10 minutos.
- 5) Se colocaron en alcohol de 100% (absoluto).
- 6) Se repitió el paso anterior.
- 7) Se colocaron en alcohol 96%.
- 8) Se colocaron en alcohol 60%.
- 9) Se incluyó en parafina.

Se realizaron cortes histológicos con un grosor de 20 μ m y la tinción fue con la siguiente técnica:

TINCIÓN CON TÉCNICA EOSINA-HEMATOXILINA

1. Se dejaron secar los cortes (24 horas mínimo).
2. Se colocaron en xilol durante 30 minutos.
3. Se cambió la solución xilol y se dejaron por espacio de 10 minutos.
4. Se lavaron con alcohol 96°.
5. Se colocaron en agua destilada por 5 minutos.
6. Se escurrió el excedente de agua.
7. Se colocaron en una solución de hematoxilina de Mayer por 10 minutos.
8. Se escurrió el excedente de hematoxilina.
9. Se colocaron en agua corriente por 10 minutos.



10. Se repitió el paso anterior.
11. Se escurrió el excedente de agua.
12. Se tiñeron con eosina con duración de 1 a 2 minutos.
13. Se lavaron con alcohol 96°.
14. Se colocaron en carboxilol por 5 minutos.
15. Se cambiaron al xilol.
16. Se montaron los cortes con bálsamo de Canadá.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de las áreas histológicas medidas del hueso alveolar, del primer molar mandibular, se analizaron por prueba “t de student”. Para el análisis del número de osteoblastos y osteoclastos se utilizó la Prueba de Kruskal Wallis. Se aceptaron aquellas diferencias en las que la probabilidad fue 0.05.



RECURSOS

RECURSOS HUMANOS

Director

Asesor

Laboratoristas

Pasante de Cirujano Dentista

RECURSOS BIOLÓGICOS

Ratas

RECURSOS INMOBILIARIOS

Laboratorio de Biología de la Reproducción C II

Bioterio

Interlaboratorio de Histología

RECURSOS FARMACOLÓGICOS

Guanetidina

RECURSOS MATERIALES

Mechero

Frascos

Microtomo

Analizador de imágenes (Motic Images Group Co., LTD)

Computadora

Hojas

Plumas

Memoria de almacenamiento USB



RECURSOS QUÍMICOS

Solución salina

Etanol

Agua corriente

Formol al 10%

Ácido clorhídrico al 10%

Alcohol de 100% (absoluto)

Alcohol 96%

Alcohol 60%

Parafina

Xilol

Agua destilada

Hematoxilina de Mayer

Eosina

Carboxilo

Bálsamo de Canadá

Solución Bouin



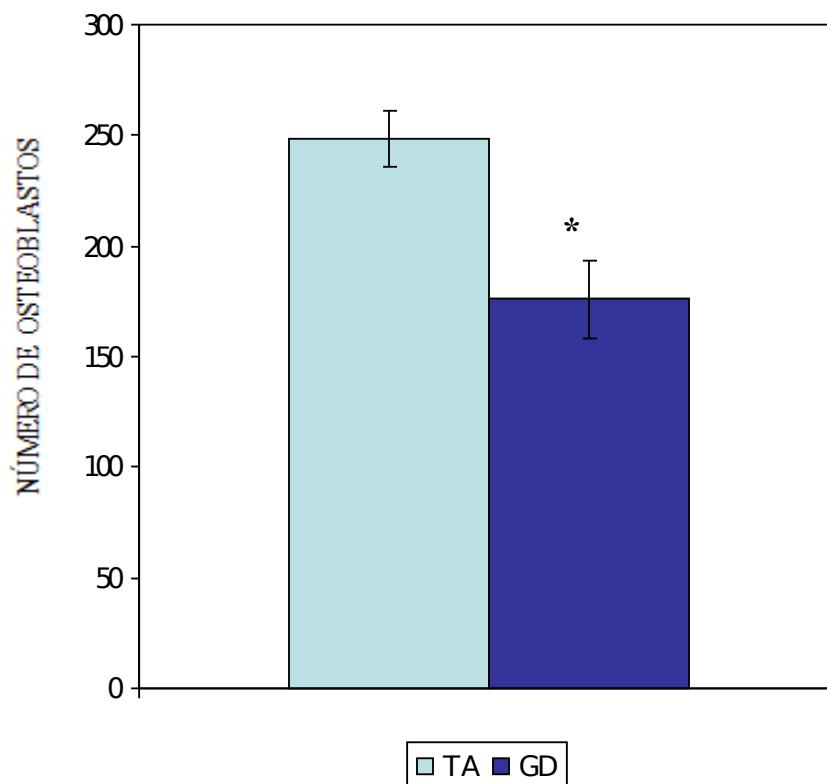
RESULTADOS

Estudios recientes han sugerido que la remodelación ósea puede estar influenciada por el sistema nervioso simpático. La inervación simpática del diente y su periodonto deriva del ganglio cervical superior. En nuestro estudio se observó que la administración de GD, realizada durante la etapa fetal, provocó cambios significativos en el área medular, así como en el número de osteoclastos y osteoblastos presentes en la superficie alveolar del primer molar mandibular.

SUPERFICIE ALVEOLAR TOTAL

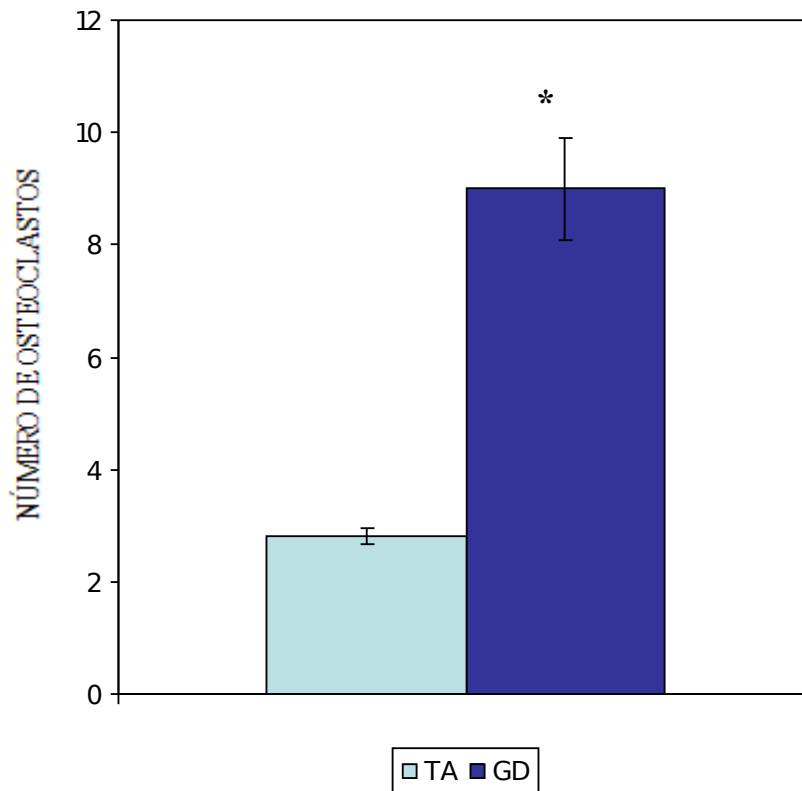
Se observó que la denervación simpática provocó un incremento significativo del área total de la superficie alveolar, este incremento está dado por un aumento del área medular ósea y no por la formación ósea (tabla 3). Al cuantificar el número de células óseas presentes en el área alveolar se observó una disminución en el número de osteoblastos y un aumento significativo en el número de osteoclastos en la superficie ósea total, en comparación con el grupo testigo absoluto (gráficas 1 y 2).

GRÁFICA 1. Media \pm eem del número de osteoblastos de la superficie ósea total del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

GRÁFICA 2. Media \pm eem del número de osteoclastos de la superficie ósea total del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

TABLA 3. Media \pm eem (mm^2), del área, médula y hueso alveolar de la superficie ósea total del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

GRUPO	ÁREA TOTAL	MÉDULA TOTAL	HUESO TOTAL
TA	19608.4 \pm 1593.9	5626 \pm 611.5	14050.2 \pm 1100.5
GD	27455.4 \pm 1963.2 *	11021 \pm 728.7 *	16434.4 \pm 1641.3

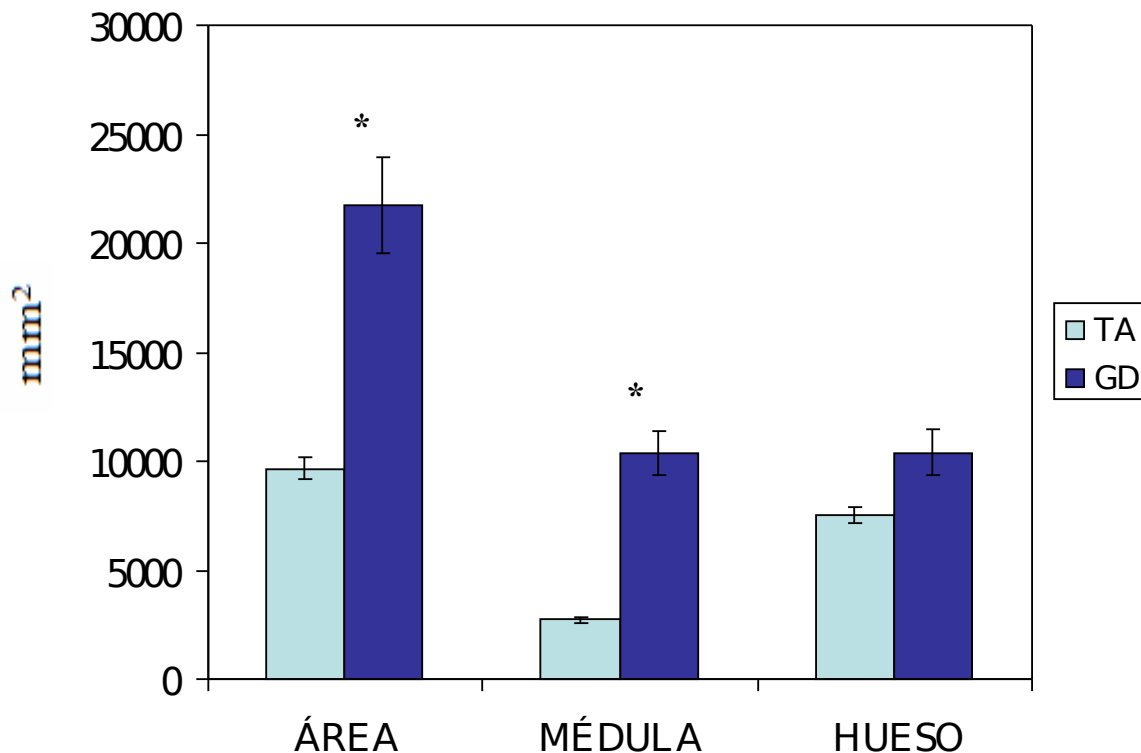
* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba "t" de Student.

Al analizar los datos relativos a las áreas mesial, interradicular y distal, se observó un comportamiento diferencial en cada una de estas superficies, en respuesta a la denervación simpática. Por lo que a continuación se muestran los datos por áreas.

SUPERFICIE MESIAL

La denervación inducida con GD, provocó un aumento significativo en el área y médula de la superficie ósea mesial del primer molar mandibular en comparación con el grupo testigo (Gráfica 3).

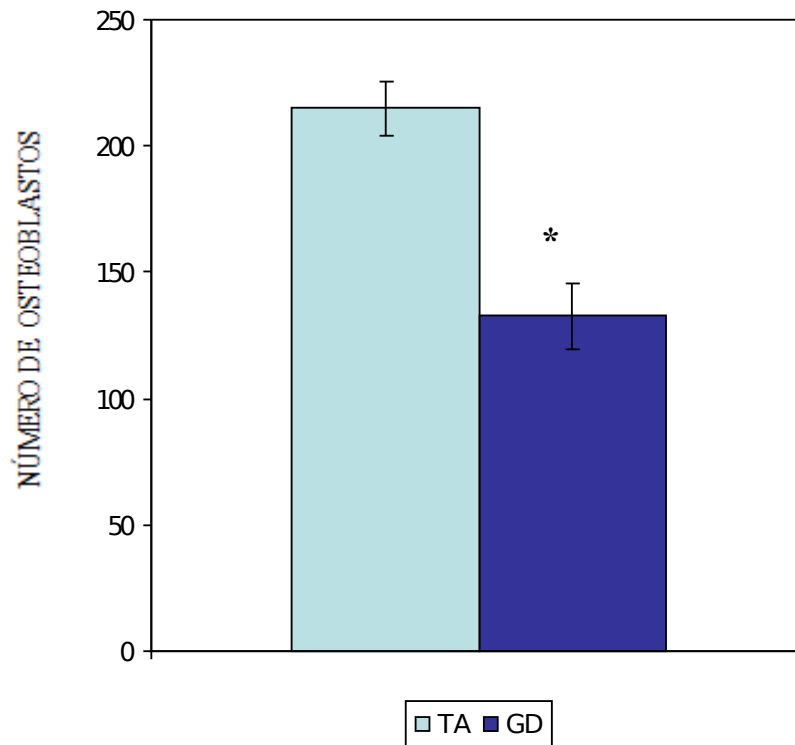
GRÁFICA 3. Media \pm eem (mm²), del área, médula y hueso alveolar de la cara mesial del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* P<0.05 GD vs TA Prueba "t" de Student

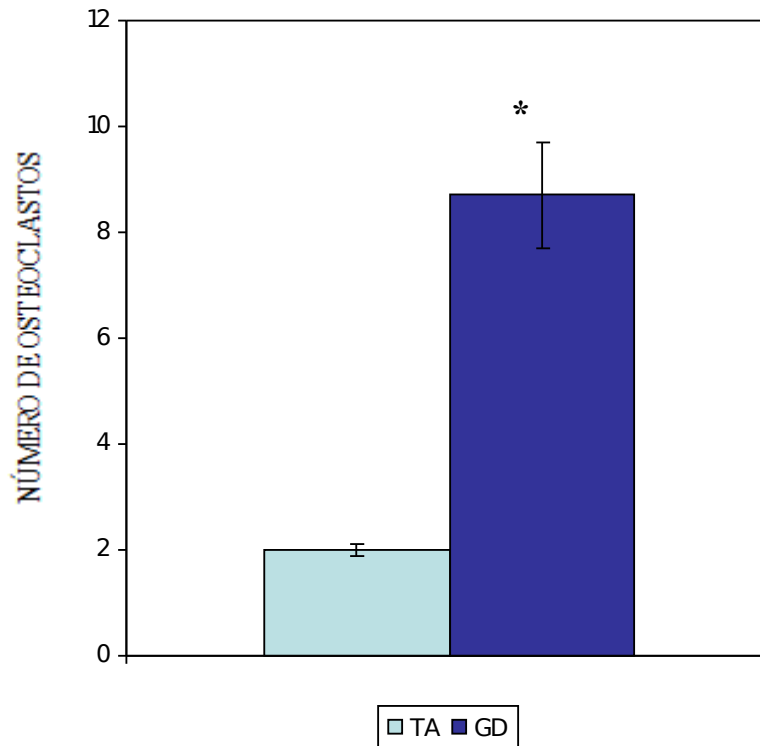
En las gráficas 4 y 5, se aprecia que la administración de guanetidina provocó una disminución del número de osteoblastos y un incremento de osteoclastos de la superficie ósea mesial en comparación con el grupo testigo.

GRÁFICA 4. Media \pm eem del número de osteoblastos de la cara mesial del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

GRÁFICA 5. Media \pm eem del número de osteoclastos de la cara mesial del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

SUPERFICIE INTERRADICULAR

El tratamiento con GD, no provocó cambios significativos en el área, médula y hueso de la superficie interradicular en comparación con el grupo testigo absoluto (tabla 4). Sin embargo el número de osteoclastos aumentó significativamente en los animales denervados, mientras que el número de osteoblastos no se modificó en comparación con el grupo testigo (gráficas 6 y 7).

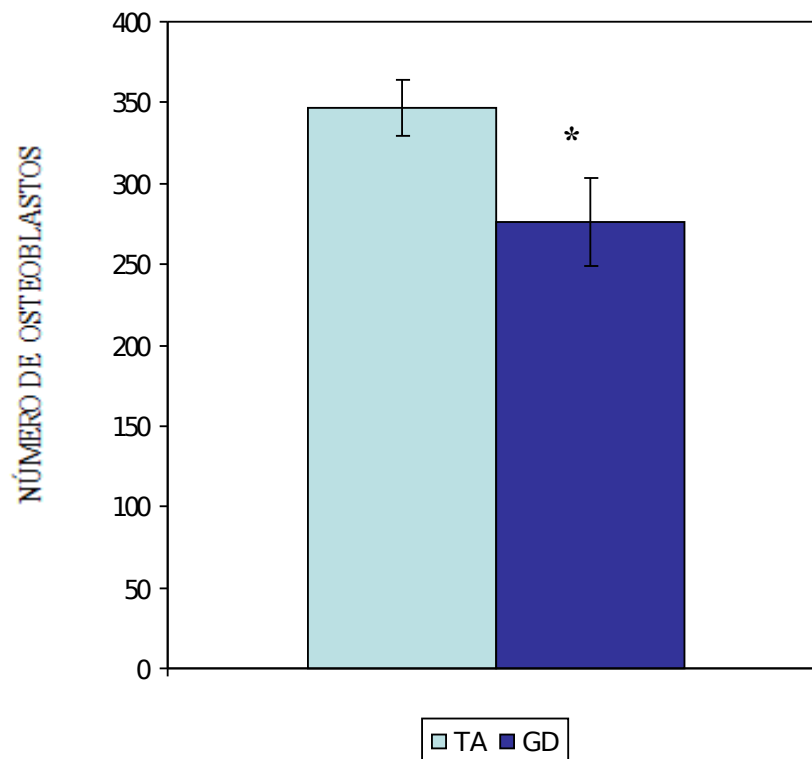


TABLA 4. Media \pm eem (mm^2) área, médula y hueso alveolar de la cara interradicular del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

GRUPO	ÁREA	MÉDULA	HUESO
TA	37882.1 \pm 1347.7	11346.5 \pm 966.3	26535.6 \pm 984.8
GD	41136.7 \pm 4045.9	14166 \pm 1381.8	26970.7 \pm 3770.2

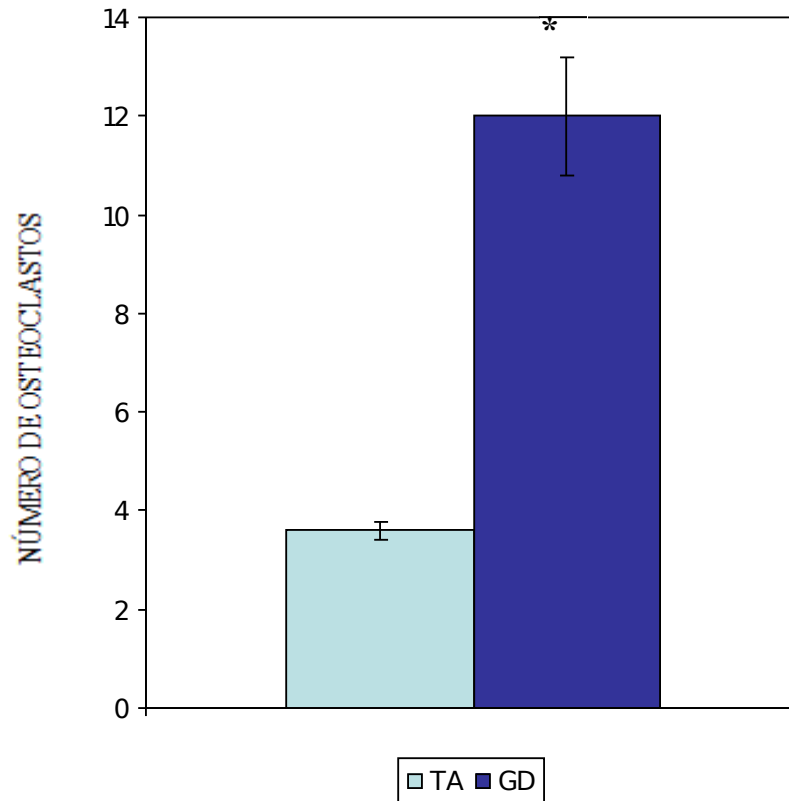
* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba "t" de Student

GRÁFICA 6. Media \pm eem del número de osteoblastos de la cara interradicular del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

GRÁFICA 7. Media \pm eem del número de osteoclastos de la cara interradicular del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

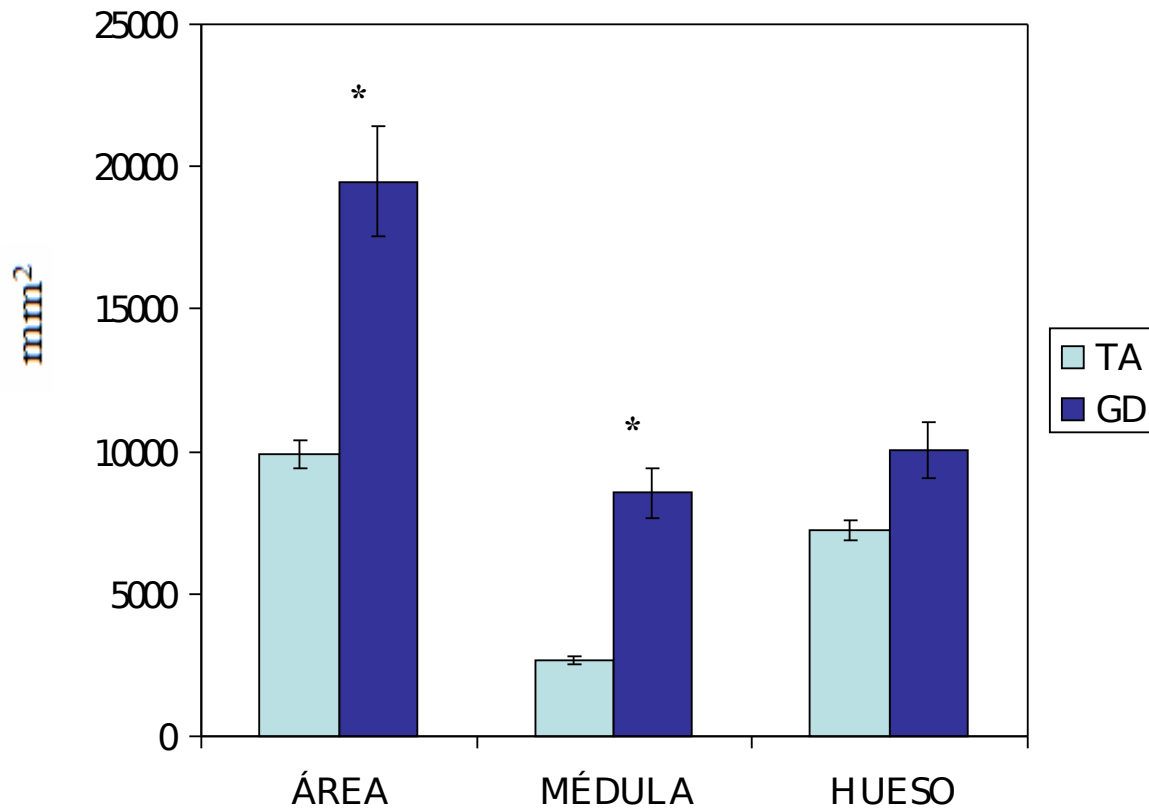


* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

SUPERFICIE DISTAL

La denervación provocó un aumento significativo en el área, en la médula y hueso de la superficie distal del primer molar mandibular en comparación con el grupo testigo (gráfica 8).

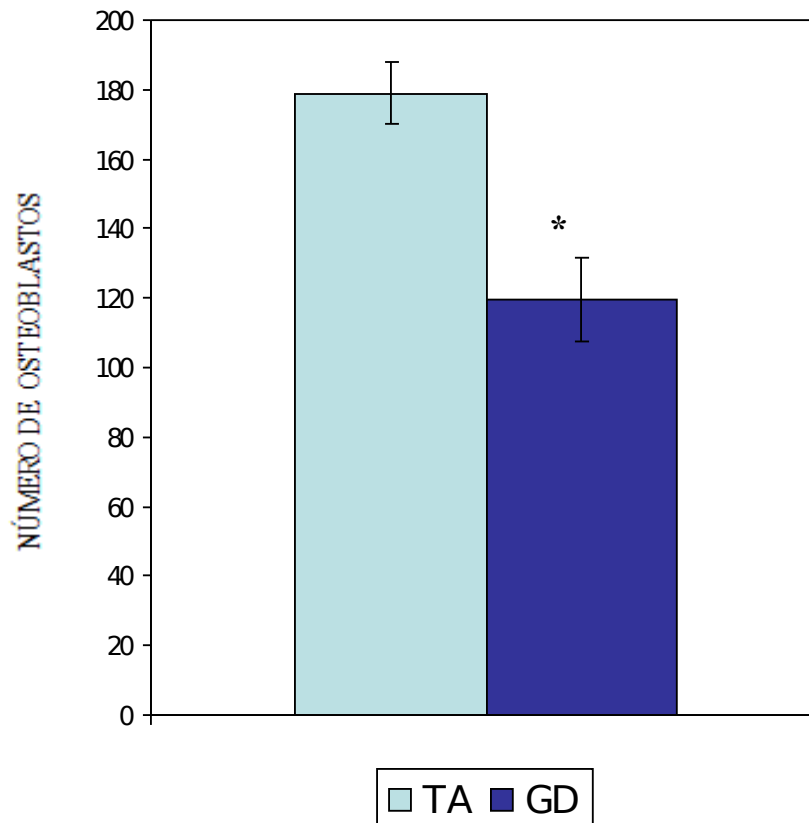
GRÁFICA 8. Media \pm eem (mm^2), del área, médula y hueso alveolar de la cara distal del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba "t" de Student

Acompañado de estos cambios se presentó también un aumento significativo en el número de osteoclastos y una disminución en el número de osteoblastos en la superficie ósea distal en comparación con el grupo testigo (gráficas 9 y 10).

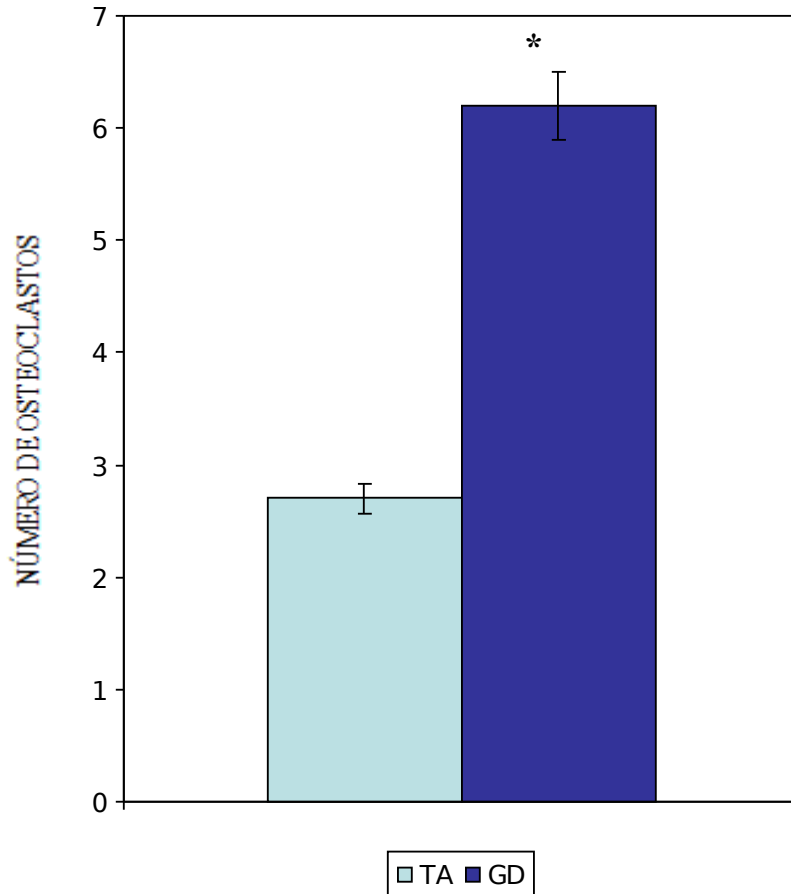
GRÁFICA 9. Media \pm eem del número de osteoblastos de la cara distal del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.



GRÁFICA 10. Media \pm eem del número de osteoclastos de la cara distal del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ GD vs TA Prueba Kruskal Wallis.

IMÁGENES

Figura 3. Imagen panorámica de la cara mesial del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) y tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal. (Imágenes tomadas con Motic Advance, a 10X)

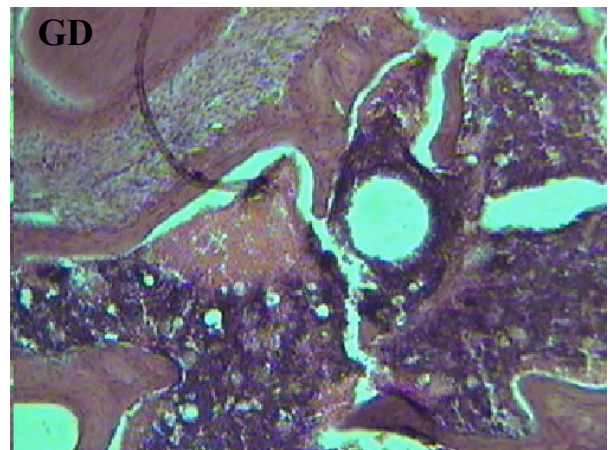
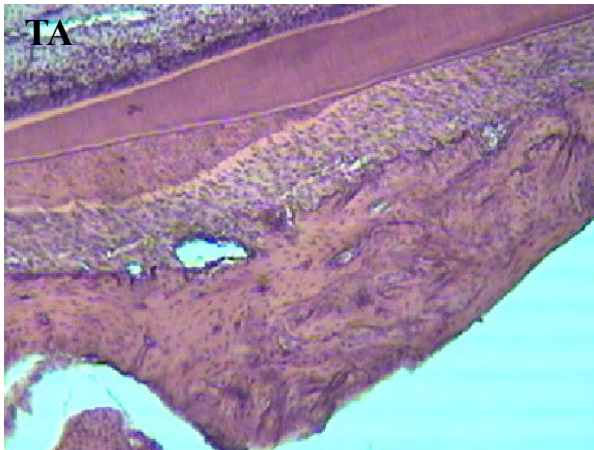
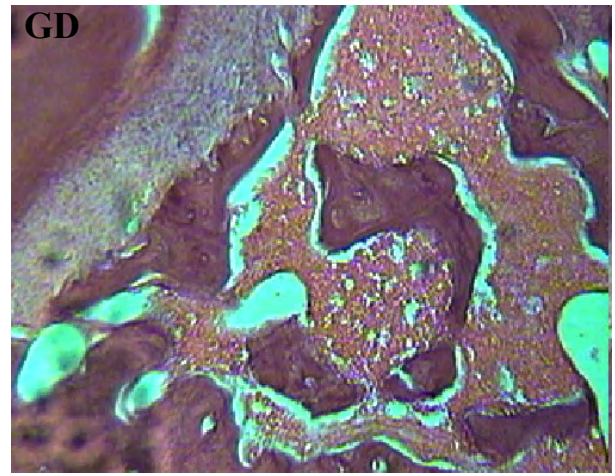
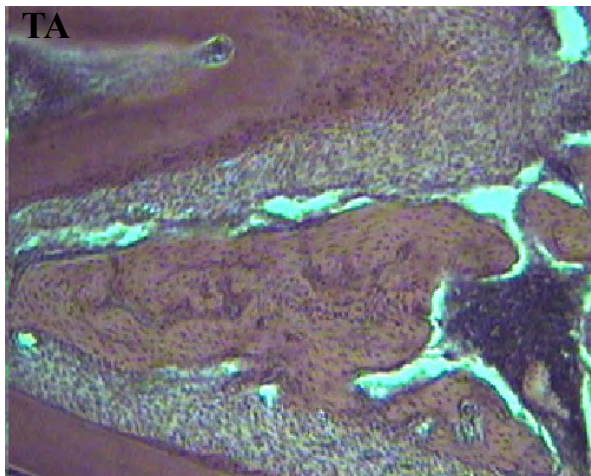


Figura 4. Imagen panorámica de la cara interradicular del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) y tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal. (Imágenes tomadas con Motic Advance, a 10X)



IMÁGENES

Figura 5. Imagen panorámica de la cara distal del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) y tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal. (Imágenes tomadas con Motic Advance, a 10X)

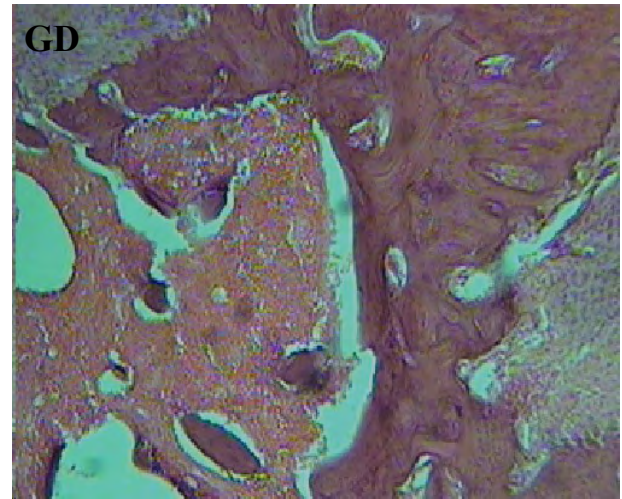
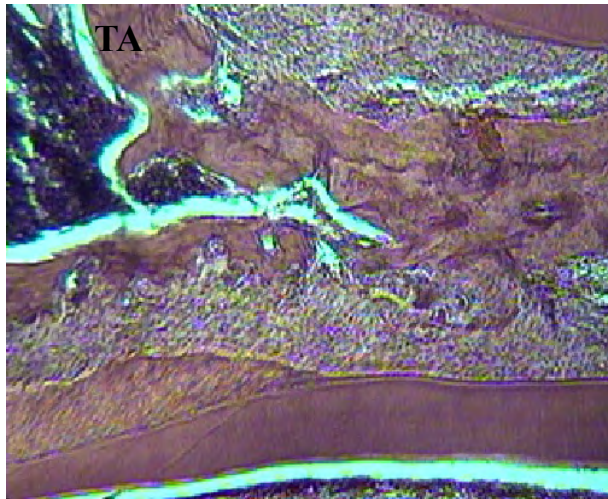
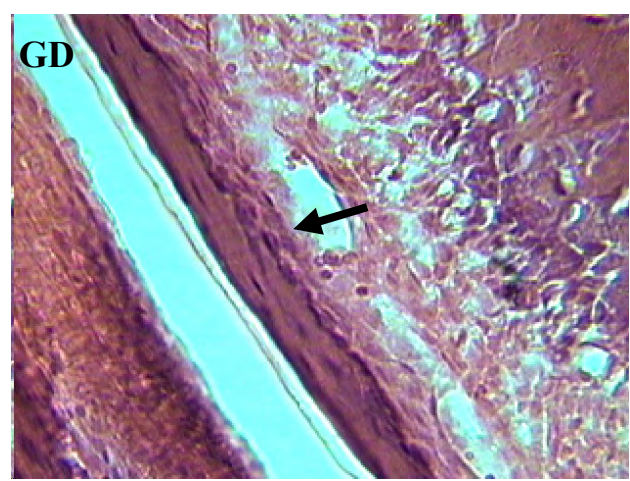
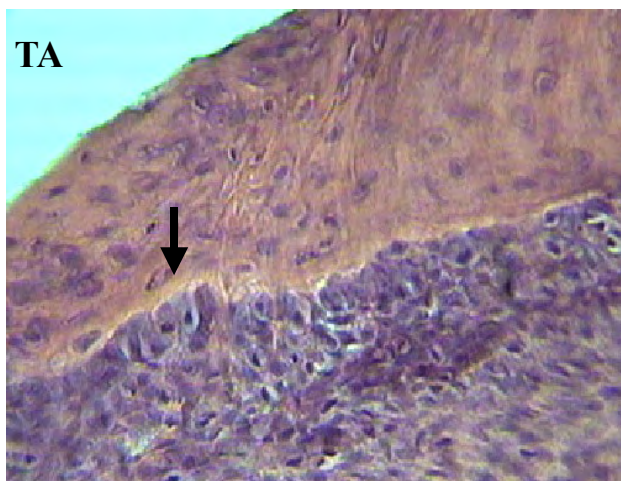
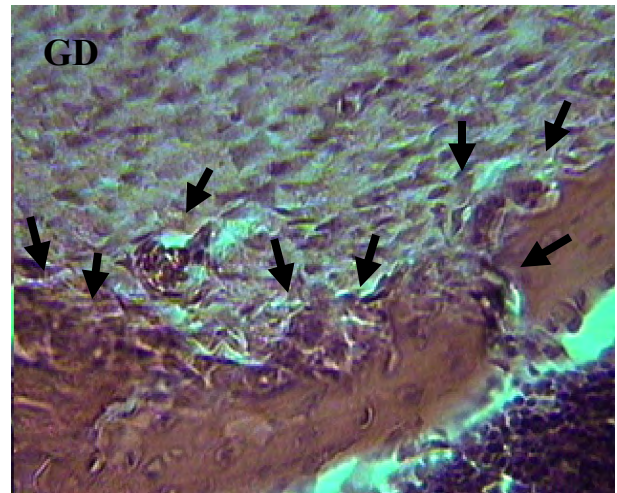
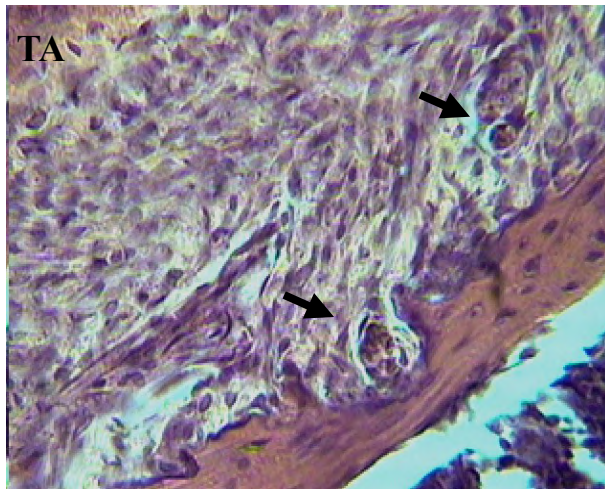


Figura 6. Osteoblastos en el hueso alveolar del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) y tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal. (Imágenes tomadas con Motic Advance, a 40X)



IMÁGENES

Figura 7. Osteoclastos en el hueso alveolar del primer molar mandibular de ratas testigo absoluto (TA) y tratadas con guanetidina (GD) durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal. (Imágenes tomadas con Motic Advance, a 40X)





DISCUSIÓN

En el presente estudio analizamos los efectos de la simpatectomía fetal inducida con GD, sobre el hueso alveolar del primer molar mandibular de la rata prepúber sacrificada en el primer estro vaginal. El tratamiento con sulfato de guanetidina ha demostrado que induce, vía una respuesta autoinmune, la destrucción selectiva de nervios simpáticos periféricos.⁽²⁶⁾ Nuestros resultados apoyan la idea de que las fibras nerviosas simpáticas participan en la regulación del metabolismo óseo.

Se sabe que la homeostasis del tejido óseo es mantenida por un balance dinámico entre resorción y formación ósea. Esta remodelación ósea es regulada por diversos factores locales y generales. Los locales son fundamentalmente de dos tipos: mecánicos y humorales (citocinas y factores de crecimiento). Los generales también son de dos tipos: hormonales (hormonas) y neurológicos. Los cuatro tipos de factores no actúan de forma independiente, sino relacionados entre sí. Por otra parte, se considera que el efecto de todos ellos confluye en una vía final común, que actuaría sobre las células efectoras (osteoclastos y osteoblastos), poniendo en marcha mecanismos de señalización intracelular.⁽⁹⁾ En los últimos años se han acumulado evidencias que muestran que tanto los osteoblastos como los osteoclastos reciben información neural.^(32,33,34,35)

La simpatectomía inducida con GD afecta no sólo a las fibras catecolaminérgicas, sino también a algunas fibras peptidérgicas (NPY y VIP)^(1,30,34) y ambos, neurotransmisores y neuropéptidos, pueden coexistir en fibras simpáticas^(1,2) y pueden encontrarse libres en el hueso o rodeando los vasos sanguíneos de la medula ósea.⁽³⁶⁾ En apoyo a lo anterior, mediante estudios de inmunohistoquímica se ha demostrado que la denervación simpática causa reducción del número de fibras inmunoreactivas a D β H, TH, VIP y NPY.^(24,29,31)

En nuestro estudio la denervación simpática provocó un aumento en el número de osteoclastos. Por lo que planteamos que el incremento de la actividad osteoclástica, en



los animales simpatectomizados, puede ser explicada por una reducción de las fibras VIP érgicas. En apoyo a lo anterior, se ha mostrado que el VIP tiene influencia sobre tres de las moléculas clave involucradas en la formación de osteoclastos: sistema RANKL/RANK/OPG. ^(37, 38)

El grupo de Juarranz (2005) mostró que en los ratones la administración de VIP provocó una disminución significativa de RANKL, así como un aumento a nivel circulatorio de OPG. El sistema RANK/RNAKL/OPG se considera como una vía final de factores locales, como son las citocinas para la remodelación ósea. En este mismo estudio mostraron que al inducir la artritis en ratones, el tratamiento con VIP provocó una disminución a nivel circulatorio de IL-6, IL-1 β , IL-4, PGE₂ y TNF- α , citocinas que a través de la unión con RANKL/RANK pueden estimular directamente la proliferación, diferenciación y actividad osteoclástica. El VIP también causó un incremento en los niveles de IL-10, una citocina con propiedades anti-inflamatorias y que junto con la OPG regulan negativamente la formación y activación de osteoclastos. ⁽³⁷⁾ Estos datos nos permiten sugerir que las fibras VIP érgicas regulan el sistema RANK/RANKL/OPG y la liberación de mediadores osteoclastogénicos.

En nuestro estudio observamos una mayor área medular, que es el lugar donde se encuentran las células estromales/osteoblastos, células precursoras de osteoblastos, y que junto con la disminución de fibras VIP érgicas, también pudo favorecer el aumento en el número de osteoclastos. La presencia de receptores para VIP tipo 1 y tipo 2 (VIP-1R, VIP-2R) ha sido demostrada previamente tanto en osteoclastos como en células del estroma medular. ⁽³³⁾ Por lo que se cree que existe una interacción entre ambos tipos celulares con el VIP, que en conjunto pueden regular la resorción ósea. En un estudio realizado por Lundberg y col. (2000), donde incubaron osteoclastos en partes desvitalizadas de hueso, mostró que bajo condiciones de escasa cantidad de células estromales/osteoblastos, la administración de VIP causó contracción citoplasmática, así como disminución de la motilidad osteoclástica, acompañado de una menor cantidad de lagunas de resorción a las 48 hrs de cultivados. Cuando los osteoclastos fueron incubados en partes de hueso



con un gran número de células estromales/osteoblastos, el tratamiento con VIP incrementó el número de lagunas de resorción y el área total reabsorbida a las 48 hrs. También demostraron, mediante el uso del microscopio de fuerza atómica, que tanto los osteoclastos como las células del estroma medular se unen al VIP.⁽³⁹⁾ Los autores sugieren que las células estromales/osteoblastos presentan receptores para VIP, que al estar ocupados por este neuropéptido, inhiben la actividad osteoclástica.

Existen estudios contradictorios, acerca del efecto de la GD sobre la resorción osteoclástica. Cherruau y col (1999), reportaron una disminución en la resorción ósea, en condiciones experimentales cercanas a las nuestras.⁽⁴⁰⁾ La diferencia entre los estudios es principalmente que estos autores realizaron la denervación en ratas adultas, mientras que nosotros la realizamos durante la etapa fetal.

Los resultados obtenidos por el grupo de Cherruau (1999) podrían deberse a que el VIP no se considera un neurotransmisor catecolaminérgico en la edad adulta, debido a que se llega a presentar fenotipo colinérgico. Asmus y col. (2000) observaron la adquisición del fenotipo colinérgico en fibras VIP érgicas del periostio de ratas adultas. Demostraron que durante el desarrollo, los axones que crecían de un ganglio simpático presentaban propiedades adrenérgicas hasta que alcanzaban el periostio, y que estas propiedades subsecuentemente desaparecen, para después cambiar a un fenotipo con propiedades colinérgicas.⁽⁴¹⁾ El tejido, en este caso el hueso alveolar mandibular, puede de esta manera presentar cambios, modificando el fenotipo de los neurotransmisores en las neuronas asociadas al mismo.

Con base en lo anterior, nuestro estudio apoya la idea de que la inervación simpática tiene un rol diferencial a lo largo de la vida, por lo que consideramos que los resultados obtenidos son en parte los efectos de fibras VIP érgicas con fenotipo adrenérgico.

Se sabe que el tratamiento con GD destruye de forma selectiva fibras simpáticas sin dañar a las fibras sensoriales. Sin embargo, en nuestro estudio no podemos descartar la



presencia de fibras NPY érgicas. En apoyo a lo anterior, el grupo de Hill y cols. (1991) mostraron que en la rata neonata la administración de GD provoca una disminución de las fibras NPY érgicas, pero no su eliminación total.⁽²⁾ En otro estudio se reporta un aumento de los niveles del NPY en el ganglio trigeminal, después de lesiones nerviosas autónomas.⁽⁴²⁾ Así después de una simpatectomía, los efectos de la actividad de nervios simpáticos probablemente podrían estar siendo imitados por fibras NPY érgicas remanentes o bien por la inervación sensorial,⁽³⁶⁾ lo que evidenciaría la plasticidad de los nervios peptidérgicos.

De esta manera, en la gran cantidad de espacios medulares advertidos en nuestro estudio, podría estar implicada la presencia del NPY. En varios estudios se han observado fibras NPY érgicas rodeando vasos sanguíneos en la médula ósea y también se ha demostrado que el NPY tiene propiedades angiogénicas potentes,⁽⁴²⁾ con actividad comparable con el factor de crecimiento fibroblástico y el factor de crecimiento endotelial.⁽³⁶⁾ A bajas concentraciones el NPY, in vitro, promovió la generación de vasos sanguíneos y la proliferación de células endoteliales. Por lo que nuestros resultados apoyan la idea de que el NPY desempeña un papel importante en el desarrollo de tejido medular,⁽⁴²⁾ así como en la revascularización durante los procesos de reparación y cicatrización del tejido óseo.⁽³⁶⁾

La presencia de fibras NPY érgicas, también podría estar causando una disminución en la actividad osteoblástica, se han descrito, mediante estudios de inmunohistoquímica, una estrecha relación entre este tipo de fibras con las células osteoblásticas. También existe evidencia que muestra la presencia de receptores para NPY en este tipo de células,⁽³³⁾ lo que podría sugerir una regulación de su actividad a través de este neuropéptido. Un estudio realizado por Baldock y col (2002), demostró que la estimulación de receptores Y2 después de administrar NPY inhibió la actividad osteoblástica. Al inducir la supresión del receptor Y2 en ratones knockout, mostraron que se estimuló la actividad osteoblástica, aumentando la tasa de mineralización y formación ósea. Los autores sugieren que el receptor Y2, no modula la formación ósea por



mecanismos humorales (citocinas y factores de crecimiento), sino que podrían desempeñar a través de la función autónoma, un papel clave en la regulación de la formación ósea.⁽⁴³⁾ Estos resultados podrían ser una prueba de que el receptor Y2 está presente en los osteoblastos, y que junto con el NPY están implicados en la inhibición de la formación y actividad de osteoblastos. Esto puede ser apoyado por la morfología aplanada que presentan los osteoblastos en los cortes de los animales denervados con GD, en comparación con la forma cúbica de los osteoblastos en los cortes del grupo TA.

Existen evidencias que muestran una relación bidireccional entre la inervación simpática y la sensorial. Se ha reportado, que la denervación simpática induce una hiperinervación sensorial. Lo que nos indica que existe un incremento de neurotransmisores sensoriales en el tejido óseo, principalmente el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y la sustancia P (SP).^(44,45,46,47)

Se ha mostrado que CGRP está abundantemente distribuido en el hueso, a través de fibras nerviosas sensoriales asociadas a los vasos sanguíneos⁽²⁾ y en aparente contacto con los osteoclastos.⁽⁴⁸⁾ En un estudio realizado por Toriya y col. (1997) donde se indujeron lesiones periapicales a ratas adultas, mostraron que el número de osteoclastos comenzó a disminuir cuando las fibras nerviosas inmunoreactivas a CGRP alcanzaron su mayor densidad.⁽⁴⁹⁾ Por lo que los autores sugieren que este neuropéptido tiene un papel inhibitor en la resorción ósea. En otro estudio realizado por Kyokolshizuk y col (2005), diseñado para valorar el papel del CGRP, demostró que éste, inhibió la formación osteoclástica causada por el RANK, pero no tuvo ninguna influencia en la producción de RANKL u OPG de las células de la médula ósea.⁽⁵⁰⁾ Ambos estudios sugieren que el CGRP inhibió la formación osteoclástica al interferir con la acción del RANKL, producido en la médula ósea. Sin embargo, en ninguna de estas investigaciones se realizó un seguimiento inmunohistoquímico de la presencia y la influencia de las fibras VIP érgicas, lo que nos hace suponer que el efecto sobre la disminución de resorción osteoclástica, realmente fue mediado por fibras VIP érgicas con fenotipo colinérgico.⁽⁴¹⁾



Por otro lado, la liberación de SP por parte de las fibras sensoriales, ejerce una variedad de acciones biológicas, relacionadas con la inflamación. [Rameshwar](#) y col. (1993), demostraron que la SP en concentraciones fisiológicas normales aumenta la producción de IL-2, fomenta la proliferación de linfocitos T y es capaz de inducir la síntesis de IL-1, IL-6 y TNF- α en monocitos humanos. Se conoce que estas citocinas desempeñan un papel central en la osteoclastogénesis y en la resorción ósea.⁽⁵¹⁾ Los autores proponen que la SP actúa como un mediador pro-inflamatorio, al mismo tiempo que participa en la osteoclastogénesis. Este estudio, se relaciona con los resultados expuestos por Bletsa y col., en 2004, que reportan un aumento en los niveles de IL-1 α y TNF- α en lesiones periapicales y pulpares, después de una simpatectomía.⁽²⁴⁾ Es posible que en los animales tratados con GD, la inervación sensorial principalmente de fibras SP érgicas, aumentan la liberación de citocinas pro-inflamatorias, las cuales estimularían la resorción osteoclástica.

Finalmente, nuestro estudio mostró diferencias entre las tres superficies óseas del primer molar mandibular, en respuesta a la denervación simpática. Observamos un aumento significativo en el área de las superficies mesial y distal, en comparación con el grupo control. Este incremento se relaciona por el aumento del área medular y no directamente por la formación ósea, lo que se comprobó por el incremento de osteoclastos en estas mismas superficies.

Sin embargo, el tratamiento con GD no provocó cambios significativos en el área, médula y hueso de la superficie interradicular. Aunque el número de osteoclastos aumentó, la disminución del número de osteoblastos no fue significativa en comparación con la superficie interradicular del grupo TA. Como el presente trabajo es el primero en analizar el papel de la inervación simpática en las áreas: mesial, distal e interradicular de la superficie ósea alveolar, podemos especular que podrían existir diferencias en la distribución y/o en la cantidad de fibras simpáticas presentes en el hueso interradicular, lo que explicaría las diferencias entre las áreas mesial y distal de los animales con denervación simpática. Por lo que para poder confirmar o descartar esta posibilidad, sería necesario realizar un estudio de histofluorescencia o inmunohistoquímica para demostrar

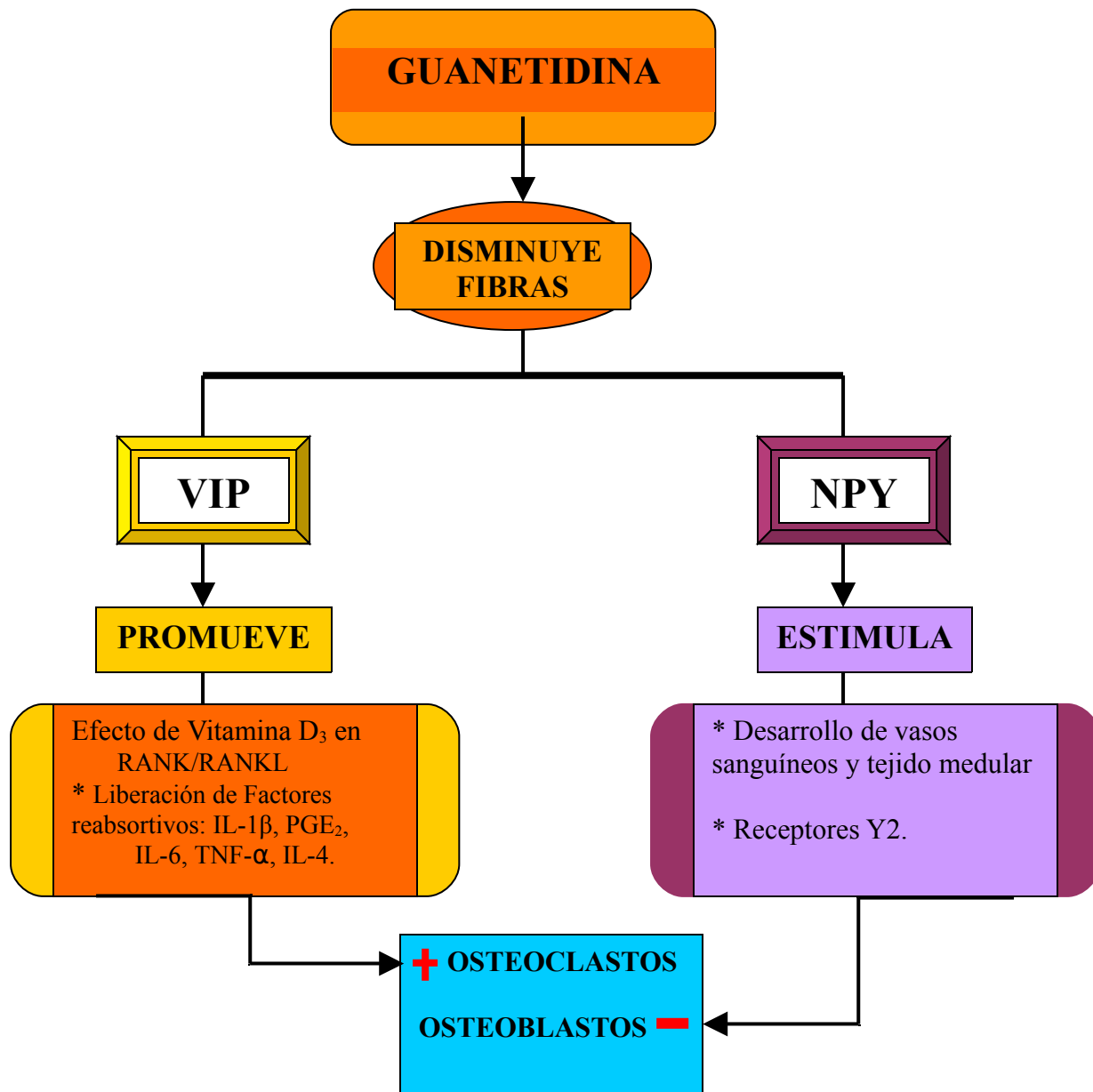


la presencia de fibras adrenérgicas, en las diferentes áreas de la superficie del hueso alveolar.

Con los resultados de este trabajo mostramos que ya desde la etapa fetal la inervación simpática modula, a través de sus neurotransmisores, los procesos de remodelación ósea.

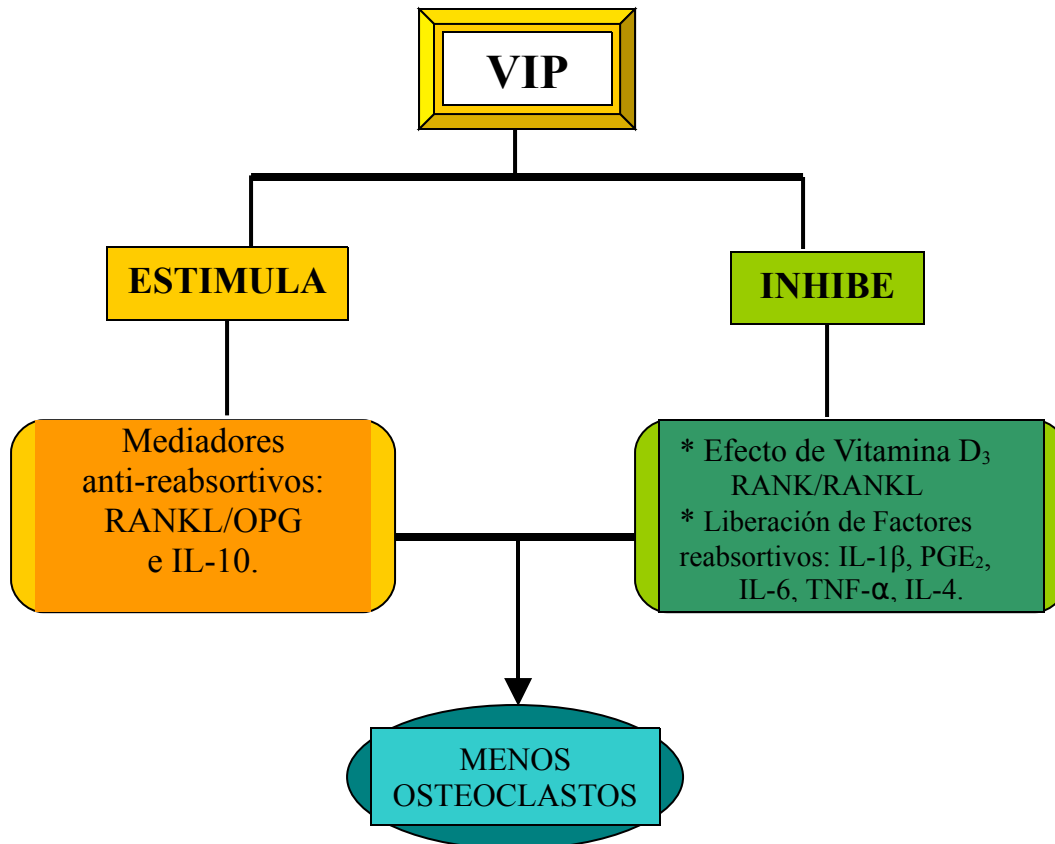
MODELO

Figura 8. Con base en nuestros resultados proponemos el siguiente modelo, para explicar los efectos de la denervación simpática. La administración de guanetidina provocó una disminución total de fibras VIP érgicas, lo que ocasionó un efecto estimulador por parte de la vitamina D₃ sobre el sistema RANK/RANKL, así como la liberación de factores reabsortivos como las IL-1 β , PGE₂, IL-6, TNF- α e IL-4, lo que finalmente promovió un aumento en la cantidad de osteoclastos. Sin embargo, la guanetidina no ocasionó la destrucción total de fibras NPY érgicas, lo que promovió la formación de tejido medular y vasos sanguíneos, así como la estimulación de receptores Y₂, que finalmente desencadenó la disminución del número de osteoblastos.



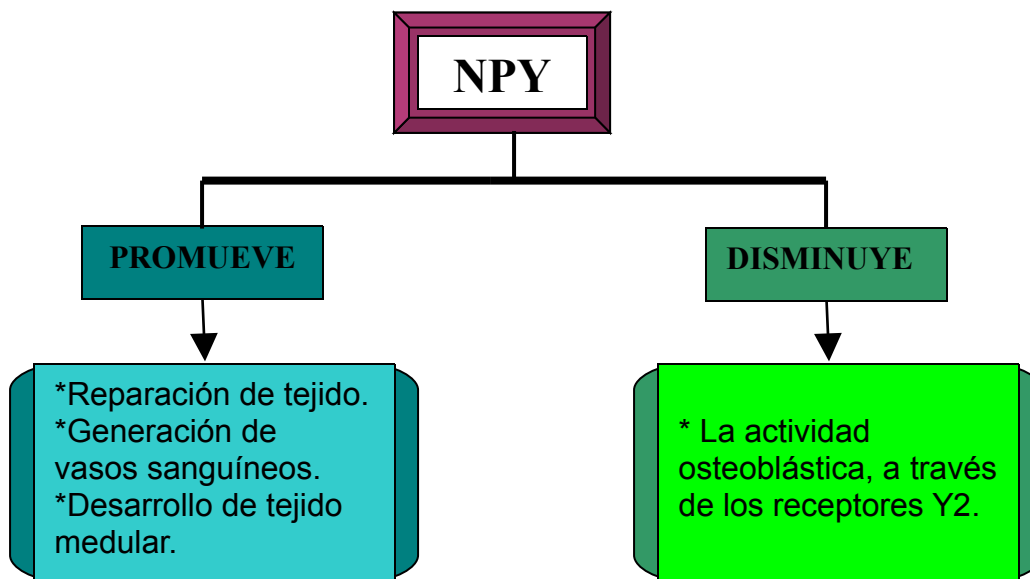
MODELO

Figura 9. Modelo propuesto para explicar las funciones de las fibras VIP érgicas. El VIP que es liberado por fibras simpáticas cumple dos funciones importantes: 1) estimula la producción de OPG en el sistema RANKL/RANK, así como la liberación de la IL-10; y 2) inhibe el efecto de la vitamina D₃ sobre el sistema RANK/RANKL, al mismo tiempo que impide la liberación de factores reabsortivos; por lo que participa en la inhibición de la osteoclastogénesis.



MODELO

Figura 10. Modelo propuesto para explicar las funciones de las fibras NPY érgicas. La liberación de NPY participa principalmente promoviendo la generación de vasos sanguíneos y la proliferación de células endoteliales, por lo que juega un papel importante en el desarrollo del tejido medular óseo; al mismo tiempo que regula la actividad osteoblástica a través de los receptores Y2.





CONCLUSIONES

- El sistema nervioso simpático participa en la remodelación ósea desde la etapa fetal.
- La eliminación de la inervación simpática estimula la formación medular en el hueso alveolar de la rata prepúber.
- La denervación simpática aumenta la cantidad de osteoclastos en las superficies mesial, interradicular y distal del hueso alveolar.
- La simpatectomía inducida con guanetidina provoca una disminución en el número de osteoblastos de las superficies mesial, interradicular y distal del hueso alveolar.



PROPUESTAS

Los resultados obtenidos en esta tesis dan la pauta para seguir investigando el papel que desempeñan la inervación simpática y sensorial en la salud y enfermedad periodontal. Por ejemplo, la periodontitis que constituye un verdadero problema de salud oral, podría tener un importante componente neurogénico. Con el conocimiento de las neuronas peptidénrgicas que inervan el hueso mandibular y la identificación de neuropéptidos en el fluido crevicular gingival, podrían realizarse investigaciones a nivel clínico, donde se estudie la distribución de marcadores neuroquímicos en el tejido de sitios afectados con gingivitis y periodontitis. Así se podría evidenciar la participación de los neuropéptidos en la patogénesis periodontal, para que de esta manera se pueda establecer una relación con otros mediadores de la inflamación que controlan la intensidad y duración de la enfermedad periodontal.

Por lo que proponemos fomentar en los alumnos de la Carrera de Cirujano Dentista la elaboración de trabajos de investigación básica, que los lleven a establecer una relación a nivel clínico-experimental, para una futura aplicación en la práctica odontológica.



REFERENCIAS

1. Cherruau M, Morvan FO, Schirar A, Saffar JL. Chemical sympathectomy induced changes in TH-, VIP-, and CGRP- immunoreactive fibers in the rat mandible periosteum: influence on bone resorption. *J Cellular Physiol.* 2003 Mar;194(3):341-8.
2. Hill EL, Elde R. Distribution of CGRP-, VIP-, D H-, SP-, and NPY- immunoreactive nerves in the periosteum of the rat. *Cell Tissue Res.* 1991 Jun;264(3):469-80.
3. Gómez FM, Campos MA. *Histología y Embriología Bucodental.* 2a ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2004.
4. Itoiz M, Carranza F. *Periodontología clínica.* 8va ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1998.
5. Lindhe J, Karring T. *Periodontología clínica e implantología odontológica.* 3ra ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2000.
6. Bhaskar SN. *Histología y Embriología Bucal de Orban.* 11va ed. México: Prado; 2000.
7. Ross MH, Gordon IK, Wojciech P. *Histología Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular.* 4a ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2005.
8. Fernández GI, Alobera MA, del Canto PM, Blanco JL. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Cir Bucal.* 2006;11:E151-7.
9. González MJ, Olmos MJ. Fisiopatología de la osteoporosis. *Med.* 2006;9 Extr.1:1-7.



10. Nair PN. Neural elements in dental pulp and dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1995 Dec;80(6):710-19.
11. Boggio V, Ladizesky MG, Cutrera RF, Cardinali DP. Autonomic neural signals in bone: Physiological implications for mandible and dental growth. Life Sci. 2004 Jun 11;75(4):383-95.
12. Zmijewska C, Surdyk-Zasada J, Zabel M. Development of innervation in primary incisors in the fetal period. Arch Oral Biol. 2003 Nov;48(11):745-52.
13. Córdova A. Fisiología dinámica. 1a ed. España: Masson; 2003.
14. Snell SR. Neuroanatomía Clínica. 5a ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2003.
15. Dvorkin MA, Cardinal DP. Bases fisiológicas de la práctica médica. 13a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2005.
16. Rouvière H, Delmas A. Anatomía Humana. Descriptiva, topográfica y funcional. Vol II. 11va ed. España: Editorial Masson; 2005.
17. Lockhart RD, Hamilyon GF, Fyfe FW. Anatomía Humana. México: Editorial Interamericana; 1965.
18. Anneroth G, Norberg KA. Adrenergic vasoconstrictor innervation in the human dental pulp. Acta Odontol Scand. 1968 May;26(2):89-93.
19. Pohto P, Antila R. Innervation of blood vessels in the dental pulp. Int Dent J. 1972 Jun;22(2):228-39.



20. Matthews B, Robinson PP. The course of post-ganglionic sympathetic fibres distributed with the trigeminal nerve in the cat. *J Physiol Rev.* 1980 Jun;303:391-401.
21. Marfurt CF, Zaleski EM, Adams CE, Welther CL. Sympathetic nerve fibers in the rat orofacial and cerebral tissues as revealed by the HRP-WGA tracing technique: a light and electron microscopic study. *Brain Res.* 1986 Feb 26;366(1-2):373-8.
22. Heyeraas KL, Kvinnsland I, Byers MR, Jacobsen EB. Nerve fibers immunoreactive to protein gene product 9.5, calcitonina gene-related peptide, substance P, and neuropéptido Y in the dental pulp, periodontal ligament, and gingiva in cat. *Acta Odontol Scand.* 1993 Aug;51(4):207-21.
23. Ladizesky MG, Lama MA, Roldán EJ, Cutrera RA, Boggio V, Giglio MJ, Cardinali DP. Effect of unilateral superior cervical gangliotomy on mandibular bone in rats. *Neuro Endocrinol Lett.* 2003 Oct;24(5):314-20.
24. Bletsa A, Heyeraas KJ, Haug SR, Berggreen E. IL-1 and TNF- expression in rat periapical lesion and dental pulp after unilateral sympathectomy. *Neuroimmunomodulation.* 2004;11(6):376-84.
25. Bowers CW, Zigmond RE. Localization of neurons in the rat superior cervical ganglion that project into different postganglionic trunks. *J Comp Neurol.* 1979 May;185(2):381-91.
26. Quiroz U. Participación de la inervación catecolaminérgica, presente en la gónada fetal de la rata, sobre el crecimiento y diferenciación del folículo ovárico [Tesis de Maestría]. México:UNAM; 1999.



27. Manning PT, Powers CW, Schimidt RE, Jonson EM. Guanethidine-induced destruction of peripheral sympathetic neurons occurs by an immune-mediated mechanism. *J Neurosci*. 1983 Apr;3(4):714-24.
28. Sandhu HS, Herskovits MS, Singh IJ. Effect of surgical sympathectomy on bone remodeling at rat incisor and molar root sockets. *Anat Rec*. 1987 Sep;219(1):32-8.
29. Hill EL, Turner R, Elde R. Effects of neonatal sympathectomy and capsaicin treatment on bone remodeling in rats. *Neuroscience*. 1991;44(3):747-55.
30. Ladizesky MG, Cutrera RA, Boggio V, Mautalen C, Cardinali DP. Effect of unilateral superior cervical ganglionectomy on bone mineral content and density of rat's mandible. *J Auton Nerv Syst*. 2000 Jan 14;78(2-3):113-6.
31. Haug SR, Heyeraas J. Effects of sympathectomy on experimentally induced pulpal inflammation and periapical lesions in rats. *Neuroscience*. 2003;120(3):827-36.
32. Togari A. Adrenergic regulation of bone metabolism: possible involvement of sympathetic innervation of osteoclasts and osteoblasts cells. *Microsc Res Tech*. 2002 Jul 15;58(2):77-84.
33. Togari A, Arai M, Mizutana S, Koshihara Y, Nagatsu T. Expression of mRNAs for neuropeptide receptors and beta-adrenergic receptors in human osteoblasts and human osteogenic sarcoma cells. *Neurosci Lett*. 1997 Sep 19;233(2-3):125-8.
34. Sherman BE, Chole RA. Effect of chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine on osteoclast activity in the gerbilline middle ear bulla. *Otol Neurotol*. 2001 Mar;22(2):237-41.
35. Bjurholm A. Neuroendocrine peptides in bone. *Int Orthop*. 1991;15(49):325-9.



36. Haug SR, Heyeraas KJ. Modulation of dental inflammation by the sympathetic nervous system. *J Dent Res.* 2006 Jun;85(6):488-95.
37. Juarranz Y, Abad C, Martínez C, Arranz A, Gutiérrez-Cañas I, Rosignoli F, Gomariz RP, Receta J. Protective effect of vasoactive intestinal peptide on bone destruction in the collagen-induced arthritis model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005 Jun 23;7(5):R1034-45.
38. Mukohyama H, Ransjö M, Taniguchi H, Ohyama T, Lerner UH. The inhibitory effects of vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide on osteoclasto formation are associated with upregulation of osteoprotegerin and downregulation of RANKL and RANK. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 April 29;271(1):158-63.
39. Lundberg P, Lie A, Bjurholm A, Lehenkari PP, Horton MA, Lerner UH, Ransjö M. Vasoactive intestinal peptide regulates osteoclasto activity via specific binding sites on both osteoclasts and osteoblasts. *Bone.* 2000 Dec;27(6):803-10.
40. Cherruau M, Facchinetti P, Baroukh B, Zafra JL. Chemical sympathectomy impairs bone resorption in rats: a role for the sympathetic system on bone metabolism. *Bone.* 1999 Nov;25(5): 545-51.
41. Asmus SE, Parsons S, Landis SC. Developmental changes in the transmitter properties of sympathetic neurons that innervate the periosteum. *J Neurosci.* 2000 Feb 15; 20(4):1495-504.
42. Lundy FT, Linden GJ. Neuropeptides and neurogenic mechanisms in oral and periodontal inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004 Jan 1; 15(2):82-98.



43. Baldock PA, Sainsbury A, Couzens M, Enriquez RF, Thomas GP, Gardiner EM, Herzog H. Hypothalamic Y2 receptors regulate bone formation. *J Clin Invest.* 2002 Apr;109(7):915-21.
44. Lener UH. Neuropeptidenergic regulation of bone resorption and bone formation. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2002 Sep 2(5):440-7.
45. Aberdeen J, Corr L, Lincoln J, Burnstock G. Marked increases in calcitonina gene-related peptide-containing nerves in the developing rat following long-term sympathectomy with guanetidina. *Neuroscience.* 1990;35:175-84.
46. Donnerer J, Amann R, Lemberck F. Neurogenic and non-neurogenic inflammation in the rat paw following chemical sympathectomy. *Neuroscience.* 1991;45(3):761-5.
47. Schon F, Ghatei M, Allen JM, Mulderry PK, Kelly JS, Bloom SR. The effect of sympathectomy on calcitonina gene-related peptide levels in the rat trigeminovascular system. *Brain Res.* 1985 Nov 25;348(1):197-200.
48. Adam C, Llorens A, Baroukh B, Cherruau M, Saffar JL. Effects of capsaicin- induced sensory denervation on osteoclastic resorption in adult rats. *Exp Physiol.* 2000 Jan; 85(1):61-6.
49. Toriya Y, Hashiuchi I, Maeda K. Inmunohistochemical examination of the distribution of macrophages and CGRP-immunoreactive nerve fibers in induced rat periapical lesions. *Endod Dent Traumatol.* 1997 Feb;13(1):6-12.
50. Ishizuka K, Hirukawa K, Nakamura H, Togari A. Inhibitory effect of GCRP on osteoclasto formation by mouse bone marrow cells treated with isoproterenol. *Neurosci Lett.* 2005 Apr 29;379(1):47-51.



-
51. Rameshwar P, Ganea D, Gascón P. In Vitro stimulatory effect of substance P on hematopoyesis. [Blood](#). 1993 Jan 15;81(2):391-8.