



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA

---

**EL PAPEL DE LA INERVACIÓN SENSORIAL  
EN EL LIGAMENTO PERIODONTAL  
DE LA RATA PREPÚBER”**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**CIRUJANA DENTISTA**  
P R E S E N T A :  
**BEATRIZ HERNÁNDEZ MONJARAZ**

**DIRECTOR: M. en C. UBALDO QUIROZ LÓPEZ**  
**ASESOR: C. D. GERARDO LLAMAS VELÁZQUEZ**



MÉXICO, D. F.

ENERO, 2011



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.

# ÍNDICE

<a href="#">Introducción</a> .....	2
<a href="#">Justificación</a> .....	4
<a href="#">Planteamiento del problema</a> .....	5
<a href="#">Marco teórico</a> .....	6
1. <a href="#">Generalidades</a> .....	6
2. <a href="#">Odontogénesis</a> .....	8
3. <a href="#">Componentes estructurales</a> .....	15
<a href="#">3.1 Células</a> .....	15
<a href="#">3.2 Fibras</a> .....	16
<a href="#">3.3 Sustancia fundamental</a> .....	16
<a href="#">3.4 Irrigación</a> .....	17
<a href="#">3.5 Sistema linfático</a> .....	17
<a href="#">3.6 Inervación</a> .....	18
4. <a href="#">Modelos de estudio</a> .....	23
<a href="#">4.1 Desnervación quirúrgica</a> .....	23
<a href="#">4.2 Desnervación química</a> .....	23
<a href="#">Hipótesis</a> .....	28
<a href="#">Objetivos</a> .....	28
<a href="#">Diseño metodológico</a> .....	28
<a href="#">Recursos</a> .....	34
<a href="#">Presentación de resultados</a> .....	35
<a href="#">Análisis de resultados</a> .....	37
<a href="#">Discusión de resultados</a> .....	37
<a href="#">Conclusiones</a> .....	41
<a href="#">Propuestas</a> .....	44
<a href="#">Referencias</a> .....	45



## INTRODUCCIÓN

El ligamento periodontal es una delgada capa de tejido conectivo fibroso, cuyas fibras sirven para unir al elemento dentario con el hueso alveolar. Este ligamento recibe una densa inervación sensorial de los ganglios trigémino y del núcleo mesencefálico trigeminal, los cuales son responsables de la sensación de dolor así como también de la función propioceptiva que permite lograr el control posicional de la mandíbula y una correcta oclusión.

Se ha reconocido que al menos existen dos tipos de receptores sensoriales en el ligamento periodontal: terminaciones nerviosas libres nociceptores y terminaciones especializadas (mecanoreceptores). A los cuales se les ha asignado tradicionalmente un papel en la regulación del flujo sanguíneo, en la transmisión del dolor y en el proceso inflamatorio; sin embargo, se han realizado pocos estudios que profundicen en el tema.

Diversas investigaciones han demostrado que las fibras nerviosas presentes en el ligamento periodontal secretan neuropéptidos como la sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Se sabe que dichas sustancias están presentes durante la formación del órgano dentario; sin embargo no se ha establecido con exactitud de qué manera intervienen.

Por lo cual se han ocupado la administración capsáica como un método farmacológico de desnervación sensorial. La capsáica es un fármaco que se obtiene de los chiles rojos picantes del género *Capsicum*.

Desde hace algunas décadas se han analizado los efectos de la capsáica en diversos órganos como en la piel para estimular el folículo piloso, en lengua para aliviar los síntomas de la estomatodinia e inclusive en dentina para disminuir el riesgo de una hiperemia tras la preparación de cavidades con la pieza de mano de alta velocidad. No obstante también ha sido utilizado para eliminar las fibras nerviosas sensoriales con



---

receptores a capsaicina y de esta manera estudiar la participación de la inervación en diversos tejidos orales.

Cuando la capsaicina es aplicada en un estado neonatal, ésta actúa como neurotóxico, induciendo irreversiblemente y de manera específica la destrucción de pequeñas neuronas sensitivas primarias. En contraste, cuando la capsaicina es aplicada en un adulto, ésta causa un efecto desensibilizante reversible y selectivo, cuya sensación depende de la dosis aplicada.

Se ha mostrado que el ligamento periodontal presenta fibras sensibles a la capsaicina, lo que permite que ésta sea utilizada para estudiar la función de estas fibras sensoriales en la estructura y función del ligamento periodontal.



## JUSTIFICACIÓN

Desde hace más de dos décadas se han realizado numerosos estudios sobre la inervación de los tejidos orales. Se ha estudiado en pulpa y hueso pero existen pocas investigaciones en ligamento periodontal<sup>1</sup> por lo que se conoce poco acerca de la función que tiene la inervación sensorial en el ligamento periodontal.

Por otra parte, diversas investigaciones se han ocupado de conocer los efectos neurofarmacológicos y neurofisiológicos de la capsaicina en mamíferos, incluyendo su uso terapéutico.<sup>2</sup> Del mismo modo, en el campo de la Odontología se han realizado estudios en el diente<sup>3, 4</sup> desafortunadamente no existen suficientes revisiones acerca de los cambios en los tejidos de soporte causados por capsaicina.

La capsaicina y su receptor TRPV1 de la familia de receptores de potencial transitorio ocupan un lugar central en los estudios neurofisiológicos actuales en relación con la transmisión del dolor y han abierto nuevos caminos para la comprensión del papel de este receptor en la sensación de ardor. Actualmente otros grupos de investigación se enfocan en encontrar nuevos remedios para el dolor a través del estudio de los receptores vanilloides.<sup>5, 6, 7</sup> Tradicionalmente se le ha asignado a la inervación sensorial un papel en la regulación del flujo sanguíneo, en la inflamación y en la transmisión del dolor.<sup>8</sup> Sin embargo, poco se sabe acerca del rol que tiene en el tejido periodontal<sup>9</sup>, por lo que en este trabajo se decidió utilizar como modelo experimental a la rata hembra prepúber a la cual se le administró al día uno de vida 50 mg/kg de capsaicina para lograr una denervación sensorial irreversible<sup>10</sup> y evaluar sus efectos en el ligamento periodontal a la pubertad.

Por todo lo anterior, el presente trabajo es un paso más para la comprensión de la regulación de la información sensorial en la fisiología del ligamento periodontal. Un mayor conocimiento de éste nos dará las bases para su aplicación clínica en periodoncia y brindar nuevas estrategias en el tratamiento ortodóntico y en implantología.



---

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los ganglios del trigémino y del núcleo mesencefálico trigeminal proveen al ligamento periodontal de una densa inervación sensorial. Estos nervios brindan sensibilidad a la presión, así como también a la sensación de dolor en el ligamento. Además, son un importante componente del sistema de control de los movimientos mandibulares.<sup>11</sup>

Se ha observado que las terminaciones nerviosas del ligamento periodontal tienen receptores TRPV1 que son sensibles a capsaicina.<sup>12</sup> Cuando la capsaicina es aplicada en un estado neonatal, ésta actúa como neurotóxico, induciendo irreversiblemente y de manera específica la destrucción de pequeñas neuronas sensitivas primarias,<sup>13</sup> lo cual resulta en la inhibición de la inflamación neurogénica.

Por otra parte, en la rata adulta la administración de capsaicina provoca, en tejido periodontal de molares inferiores, una reducción en el número de fibras de CGRP y SP, los cuales tienen un efecto neurotrópico y actúan localmente en los sistemas vascular e inmune, y en las terminales centrales donde funcionan como neuromoduladores.<sup>14,15</sup>

Del mismo modo, existe evidencia de que neuropéptidos como SP y CGRP participan en la regulación de la odontogénesis. Se han observado cambios dinámicos en la localización de los receptores de neurokinina (NK1) y CGRP1 en el desarrollo de los tejidos orales de la rata; lo cual indica un papel activo de sus ligandos en la regulación del desarrollo de la corona y la raíz del diente.<sup>16</sup>

Lo anterior nos permite plantear la siguiente pregunta: ¿La inervación sensorial regula la estructura y organización del ligamento periodontal?



## MARCO TEÓRICO

### 1. GENERALIDADES.

El periodonto (peri: alrededor, odonto: diente) es un conjunto de tejidos dinámicos que como principal función tiene la de dar soporte a los dientes dentro de su alveolo<sup>17</sup>, así como proteger la raíz dental. Éste se encuentra constituido por cuatro tejidos: dos tejidos blandos (encía y ligamento periodontal) y dos tejidos mineralizados (hueso alveolar y cemento radicular).<sup>18</sup>

El ligamento periodontal es un tejido conectivo denso muy vascularizado entre el diente y el hueso alveolar, que soporta y ancla al diente en el alveolo.<sup>19</sup>Sus fibras se insertan por un lado en el cemento y por el otro en la placa cribosa del hueso alveolar.

El ligamento periodontal ha recibido también las siguientes denominaciones: periodonto, membrana periodontal, ligamento alveolodental y desmodonto.<sup>20</sup>

Las funciones primordiales del ligamento son mantener al diente suspendido en su alveolo y soportar las fuerzas empleadas durante la masticación ya que éste le confiere al diente un carácter resiliente ante las fuerzas oclusales, de modo que puede compensar el estrés oclusal mediante pequeños movimientos que se han cifrado entre las 200 y las 300 micras ante fuerzas masticatorias fisiológicas.<sup>21</sup>

Para que el ligamento pueda absorber las fuerzas de masticación elabora una matriz de fibras colágenas. Este colágeno cambia constantemente en el ligamento periodontal, muy probablemente debido a la constante necesidad de remodelación para resistir las fuerzas masticatorias.<sup>22</sup>

Además, el ligamento periodontal funciona como un aparato sensitivo gracias a su abundante inervación. Los estímulos mecánicos al diente provocan, a través de los mecanorreceptores, varios reflejos orales que facilitan una masticación suave.<sup>23</sup>





Estudios experimentales y clínicos han sugerido un alto potencial de plasticidad neuronal en estas terminaciones. De acuerdo a estudios previos, las terminaciones de Ruffini se pueden regenerar alrededor de 28 días después del corte del nervio alveolar inferior.<sup>24</sup>

Además los mecanorreceptores son conocidos por estar involucrados en el control neuronal de los movimientos mandibulares puesto que actúan como receptor sensorial propioceptivo, función, está última, necesaria para lograr una correcta oclusión.<sup>25</sup>

A nivel del ápice dentario el tejido conectivo periodontal se pone en contacto con el tejido conectivo pulpar, mientras que en la parte superior se relaciona con el corion gingival. El ligamento al continuarse con el tejido pulpar y con el tejido conectivo de la encía y el de la unión dentogingival, forma un conjunto estructural y funcional y, por tanto, un solo sistema biológico.

El ligamento periodontal se comunica por conductos vasculares (conductos de Volkmann) en el hueso alveolar propio con los espacios medulares del hueso alveolar. El espacio del ligamento periodontal tiene la forma de un reloj de arena, más estrecho a nivel radicular medio.<sup>26</sup>

El ancho del ligamento periodontal varía notablemente de un individuo a otro, entre los distintos elementos dentarios, y aún en las diferentes zonas de un mismo diente. En general, se acepta que su espesor oscila entre los 0.10 y 0.38mm. El espesor del ligamento periodontal disminuye con la edad (tiene un ancho promedio de unos 0.20mm en individuos jóvenes y de 0.15mm en personas mayores de cincuenta años), y aumenta con la función masticatoria (es más ancho en dientes funcionales y más delgado en diente no funcionales o retenidos).<sup>27</sup>



## 2. ODONTOGÉNESIS

El crecimiento y desarrollo del diente es un proceso dinámico y complejo en el cual existen interacciones recíprocas entre el tejido mesenquimatoso y las células epiteliales que juegan un papel importante en el control de la formación del diente y los tejidos periodontales.<sup>28</sup>

Las dos capas germinativas que participan en la formación de los dientes son: el epitelio ectodérmico, que origina el esmalte y el *ectomesénquima*; que forma los tejidos restantes (complejo dentinopulpar, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar).

En la odontogénesis, el papel inductor desencadenante es ejercido por el ectomesénquima o mesénquima cefálico, denominado así porque son células derivadas de la cresta neural que han migrado hacia la región cefálica. Este ectomesénquima ejerce su acción inductora sobre el epitelio bucal (de origen ectodérmico) que reviste el estomodeo o cavidad bucal primitiva.

Durante la sexta semana de vida intrauterina del humano, se forma lámina dental o listón dentario, a partir del ectodermo que tapiza la cavidad bucal primitiva o estomodeo. Las células basales del epitelio bucal proliferan a lo largo del borde libre de los futuros maxilares, dando lugar a dos nuevas estructuras: la lámina vestibular (que dará lugar al *surco vestibular*, entre el carrillo y la zona dentaria) y la lámina dentaria (donde se originarán los 20 dientes deciduos y los 32 gérmenes de la dentición permanente).

Sobre la lámina dentaria aparecen 10 yemas o brotes en cada maxilar. La proliferación desigual del brote determina una concavidad en su cara profunda. Su concavidad central encierra una pequeña porción del ectomesénquima que lo rodea; *la papila dentaria*, que dará origen al complejo dentinopulpar..<sup>29</sup>

El tejido mesenquimático que se encuentra por fuera del casquete forma al *saco dentario primitivo o folículo dental*. El órgano del esmalte, la papila y el saco dentario constituyen en su conjunto al *germen dentario*.



Sobre las catorce a dieciocho semanas de vida intrauterina se acentúa la invaginación del epitelio interno adquiriendo el aspecto típico de una campana.

Al avanzar este estado los ameloblastos jóvenes ejercen su influencia inductora sobre la papila dentaria. Las células superficiales de la papila dentaria se diferencian en odontoblastos que comienzan a sintetizar dentina.

Los ameloblastos permanecen inactivos hasta que los odontoblastos hayan secretado su primera capa de dentina. Posteriormente, los ameloblastos se activan y se transforman por citodiferenciación *en ameloblastos secretores o maduros* que sintetizarán el esmalte cuando se formen las primeras capas de dentina calcificada.<sup>30</sup>

La inervación se establece en forma precoz. Delgadas prolongaciones nerviosas, dependientes del trigémino, se aproximan en los primeros estadios del desarrollo dentario, pero no penetran en la papila hasta que comienza la dentinogénesis.

Como la mayoría de los trayectos de los axones trigeminales, las fibras dentales alcanzan a los gérmenes dentarios durante el desarrollo embrionario, los estadios finales de morfogénesis así como la mineralización de la corona, la formación de la raíz y la erupción en los dientes de ratón tienen lugar después del nacimiento. La navegación de los axones y su sobrevivencia en el diente embrionario es esencial para el establecimiento de la inervación en el diente adulto.

Se ha demostrado que la localización de las fibras nerviosas en el diente humano presenta un crecimiento y un patrón que tiene lugar en una manera de controlada espaciotemporalmente y se vinculan gruesamente en la etapa avanzada de morfogénesis dental.<sup>31</sup>

En el estadio de campana, fibras nerviosas inmunoreactivas a PGP 9.5 (proteína producto del gen 9.5) CGRP y SP fueron encontradas en el folículo dental pero no en la papila ni en el retículo estrellado. En la fase de campana avanzada, después del inicio de la formación de la dentina y esmalte, fibras inmunoreactivas a PGP 9.5, CGRP y SP



fueron encontradas en la papila dental, mientras que las primeras fibras inmunoreactivas a NPY se encontraron en la papila cuando la formación de la raíz comenzó. Desde el inicio del desarrollo de la raíz nervios inmunoreactivos a CGRP, SP y NPY se mostraron en el desarrollo del ligamento periodontal, a pesar de que un patrón de distribución madura no se observó hasta que la formación de las raíces estaba casi terminada.<sup>32</sup>

Existen factores tróficos como *el factor de crecimiento nervioso (NGF)*, *el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)* y *el factor neurotrófico derivado de la glia (GDNF)* que se relacionan con el comienzo y el desarrollo de la inervación sensorial en la papila dental y con el crecimiento de los axones pulpares.

Específicamente hablando del GDNF, estudios recientes han revelado una estrecha relación entre la expresión de esta neurotrofina y la expansión de los axones de las terminaciones de Ruffini, lo que indica que el GDNF es una molécula clave para la maduración y el mantenimiento de las terminaciones de Ruffini.<sup>33</sup>

La inervación inicial es solamente del tipo sensorial, pues los estudios histoquímicos han demostrado que las fibras nerviosas autónomas (simpáticas y parasimpáticas) están ausentes durante los primeros estadios.

Por otra parte, existe evidencia de que neuropéptidos como la sustancia P (SP) y el péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP) participan en la regulación de la odontogénesis. Se han observado cambios dinámicos en la localización de los receptores de neurokinina (NK1) y CGRP en el desarrollo de los tejidos orales de la rata; lo cual indica un papel activo de sus ligandos en la regulación del desarrollo de la corona y la raíz del diente.<sup>34</sup>

Una vez formada la corona, las células del epitelio interno y externo del esmalte forman una vaina epitelial de dos capas, denominada la vaina epitelial radicular de Hertwig.



Parte de esta vaina formará, eventualmente, los restos epiteliales de Malassez y el resto de las células sufrirán apoptosis.

La transición del epitelio mesenquimatoso es un proceso fundamental mediante el cual las células sufren un cambio en el desarrollo de un fenotipo epitelial polarizado a un fenotipo mesenquimal altamente móvil. Durante los procesos normales de desarrollo, la transición epitelio-mesenquimal juega un papel importante en muchos eventos en diferentes etapas de desarrollo, tales como la gastrulación, neurulación y migración neural de las células de la cresta.<sup>35</sup>

Durante esta etapa, el saco dentario está formado por dos capas; una interna célula – vascular y otra externa o superficial con abundantes fibras de colágena. Las fibras de colágena y precolágena se dispone en forma circular envolviendo el germen dentario en desarrollo, de ahí proviene la denominación de saco dentario. La colágena presente a este nivel es de tipo I y III.

De la capa celular constituida por células mesenquimáticas indiferenciadas derivan los componentes del periodonto de inserción; cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. La lamina dentaria prolifera en su borde más profundo, que se transforma en un extremo libre situado por detrás (en posición lingual o palatino) con respecto al órgano del esmalte y forma el *esbozo o brote del diente permanente*. La conexión epitelial bucal se desintegra por el mesénquima en proliferación. Los restos de la lámina dentaria persisten como restos epiteliales redondeados, conocidos con el nombre de *perlas de Serres*.

Posteriormente se comienzan a identificar las zonas de las futuras cúspides o bordes incisales, la presencia del depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en desarrollo. El crecimiento aposicional del esmalte y dentina se realiza por el depósito de capas sucesivas de una matriz extracelular en forma regular y rítmica. Se alternan periodos de actividad y reposos a intervalos definidos.



La elaboración de la matriz orgánica, a cargo de los odontoblastos para la dentina y de los ameloblastos para el esmalte, es inmediatamente seguida por las fases iniciales de su mineralización.

El mecanismo de formación de la corona se realiza de la siguiente manera; primero se depositan unas laminillas de dentina y luego se forma una de esmalte. El proceso se inicia en las cúspides o bordes incisales y paulatinamente se extiende hacia cervical.

La formación de la raíz da inicio a la formación del periodonto, donde después de la formación de la corona, el mesénquima apical continúa proliferando hacia el desarrollo del periodonto, mientras el epitelio dentario interno y externo se funden inferiormente al nivel cervical del esmalte, produciendo una vaina epitelial de dos capas, denominada la vaina epitelial radicular de Hertwig.

La doble capa de células epiteliales de la vaina epitelial radicular de Hertwig induce la diferenciación de los odontoblastos que producen la dentina radicular. Tan pronto como la dentina radicular empieza a calcificar, la vaina se rompe y las células ectomesénquimatosas se mueven a través de la superficie dentinaria hacia donde se produce la matriz del cemento. Al mismo tiempo, algunas células de la vaina de Hertwig migran hacia el ligamento periodontal y otras sufren apoptosis. Sin embargo, algunas células pertenecientes a la vaina desintegrada forman agrupaciones celulares conocidos como restos de Malassez en el ligamento periodontal. .<sup>36</sup>

Aunque los restos de Malassez en el ligamento periodontal permanecen durante toda la vida, la función exacta de estas estructuras no ha sido clarificada del todo. Se ha descrito que estas células secretan sustancias potencialmente capaces de estimular la reabsorción ósea como las prostaglandinas y la interleucina 1 $\alpha$ . Estudios *in vitro* han demostrado que los restos de Malassez modulan la expresión por parte de los fibroblastos de fosfatasa alcalina, osteocalcina y sialoproteínas de hueso, lo cual sugiere una interacción entre las células de los restos epiteliales de Malassez y los



fibroblastos del ligamento periodontal. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que los restos de Malassez son responsables del mantenimiento del espacio del ligamento.<sup>37</sup>

Se cree que los progenitores del ligamento periodontal, osteoblastos y cementoblastos adoptan una localización paravascular en el ligamento periodontal y estas células, las cuales exhiben algunas características de células madre, pueden regenerar tejidos funcionales cuando se necesita regenerarse<sup>38</sup>.

Con el desarrollo de la raíz del diente se inicia la formación del ligamento, pero la estructura definitiva se adquiere una vez que el elemento dentario ocluye con su antagonista. En un inicio, el espacio del ligamento periodontal es ocupado por un tejido conectivo desorganizado que se extiende entre el hueso y el cemento. Este tejido es entonces remodelado y la matriz extracelular provisional es convertida en un sistema organizado de fibras.<sup>39</sup>

Al completarse la formación de la raíz, la vaina radicular se dobla finalmente hacia adentro, en cada lado, para formar el diafragma epitelial. Esta estructura marca el límite más inferior de la raíz y envuelve al agujero apical primario, que es la abertura por la que entran y salen nervios y vasos sanguíneos de la cámara pulpar. A partir de este momento se conoce a la papila dental como pulpa.<sup>40</sup>

## ***Regulación molecular de la morfogénesis dentaria***

### ***1) Durante la lámina dental.***

#### ***Proteínas morfogenéticas óseas (BMPS) BMP4***

Interviene en la expresión de los genes *Msx-1* y *Msx-2*, los cuales contribuyen a determinar el patrón microscópico del órgano dentario a través de la regulación de distintas moléculas de la superficie celular y de la matriz extracelular. La expresión se produce primero en las células epiteliales y con posterioridad en las células ectomesenquimatosas.



### *Factor de crecimiento fibroblástico (FGFS)*

Los factores FGFS regulan la morfogénesis epitelial y el desarrollo del mesénquima estimulando la proliferación celular local.

### *Intervienen las proteínas Hedgehog (Shh).*

Las proteínas Shh regulan el crecimiento y determinan la forma del diente. Su presencia no es, sin embargo, necesaria para la diferenciación de los ameloblastos ni de los odontoblastos. Las Proteínas Wnt intervienen en la regulación de la proliferación, la migración y la diferenciación celular.

### 2) Durante el brote.

#### *El factor transformador del crecimiento (TGF $\beta$ ) y activina*

Se ha encontrado en el líquido crevicular, alrededor de dientes sometidos a tensiones.<sup>41</sup>

### 3) Durante el estadio de campana

#### *Factor de crecimiento epidérmico (EGF) y Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)*

PDGF es un péptido esencial para la embriogénesis y la regeneración de tejidos. En las células del folículo dental es un mitógeno y mejora la expresión de CSF-1<sup>42</sup>

Entre las moléculas del mesénquima, relacionadas con la adhesión celular y la remodelación de la membrana basal se encuentran:

- \* *El sindecán 1 (proteoglicano de la superficie celular)*
- \* *Tenascina (glicoproteína de la matriz extracelular). Se presenta en los estadios de brote y de campana.*

En la remodelación final de la papila dentaria intervienen; *las metaloproteasas*





### **3. COMPONENTES ESTRUCTURALES DEL LIGAMENTO.**

El ligamento periodontal, como todo el tejido conectivo denso, está constituido por células, fibras y sustancia fundamental amorfa. Además, posee vasos sanguíneos, linfáticos y fibras nerviosas.

#### **3.1 Células**

El ligamento periodontal está compuesto por una población heterogénea de células encontrándose fibroblastos y células progenitoras. Además el ligamento tiene células multifuncionales que pueden diferenciarse en osteoblastos, cementoblastos o fibroblastos durante la reparación de una herida.<sup>43</sup>

Desde el punto de vista funcional podemos distinguir los siguientes tipos de células:

- a) Células formadoras: fibroblastos, osteoclastos y cementoblastos.
- b) Células resortivas: osteoclastos y cementoclastos.
- c) Células defensivas: macrófagos, mastocitos y eosinófilos.
- d) Células epiteliales de Malassez
- e) Células madre ectomesenquimáticas.<sup>44</sup>

Todas estas células tienen en el ligamento periodontal un papel funcional tan importante como el de los componentes fibrilares que constituye el tejido. Algunos de los datos citológicos que poseemos acerca de estas células y de su papel funcional en el ligamento periodontal proceden de investigaciones experimentales realizadas en distintos mamíferos.



### **3.2 Fibras**

Las fibras son proteínas del sistema de carga que se encuentran en el tejido periodontal. Las que encontramos principalmente en este tejido son: fibras de colágeno, oxitalán, elaunin, y las fibras elásticas.

Las fibras de colágeno son principalmente tipo I, III y V. Las cuales pueden tener una dirección definida (fibras principales), o dispuestas desordenadamente entre las principales (fibras secundarias). Las fibras principales se denominan según el lugar donde se inserten y pueden ser: crestalveolares (oblicuas ascendentes), horizontales (transición), oblicuo descendente, apicales e interradicular, las porciones de fibras principales que están incluidas en el hueso se llaman fibras de Sharpey, y las insertadas en cemento, fibras perforantes. Las fibras se entrecruzan sorteando los vasos sanguíneos dando aspecto de rueda de carro.<sup>45</sup>

En cuanto a las fibras de oxitalán, elaunin, y elásticas, la diferencia radica en su microfibrillas y contenido de elastina. Se sabe que las fibras de oxitalán son distribuidas en el ligamento periodontal y la encía, mientras que las fibras elásticas y de elaunin sólo están presentes en la encía.<sup>46</sup>

### **3.3 Sustancia fundamental amorfa**

La sustancia fundamental del ligamento periodontal, contiene proteoglicanos, hialuronan, condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato, dermatán sulfato y heparán sulfato, glicosaminoglicanos (dermatán sulfato) y glicoproteínas adhesivas (ondulina, tenascina y fibronectina).<sup>47</sup> Proteoglicanos y CAMP<sup>48</sup>



### 3.4 Irrigación

La arteria dentaria que es una rama de la arteria maxilar superior o inferior abandona la arteria intratabical antes de que ésta penetre en el alveolo dentario. Las ramas terminales de la arteria intratabical (rami perforantes) penetran en la lámina dura por conductillos en todos los niveles del alveolo. Se anastomosan en el espacio del ligamento periodontal y con otras ramas terminales de la arteria intratabical. Antes de entrar en el conducto radicular, la arteria dentaria emite ramas que vascularizan la porción apical del ligamento periodontal.<sup>49</sup>

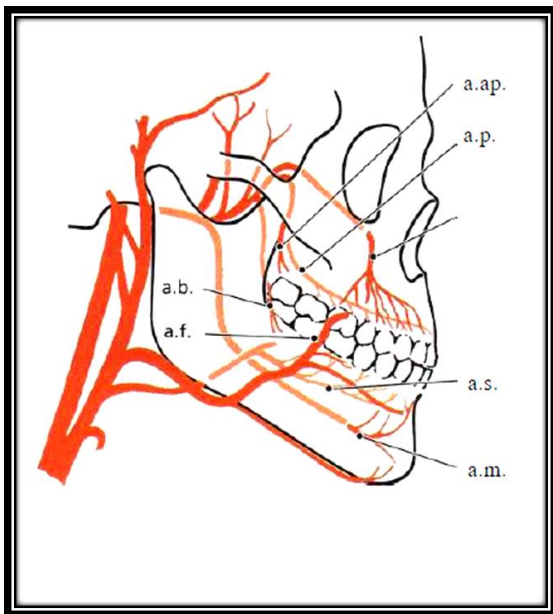


Fig. 1 Irrigación sanguínea de los tejidos dentarios y periodontales. Arteria sublingual (a. s.). Arteria mentoniana (a. m.) Arteria bucal (a. b.). Arteria facial (a. f.). Arteria palatina (a. p.). Arteria infraorbitaria (a. i.). Arteria alveolar posterosuperior (a. ap.) Tomado de Lindhe J. 2003.

### 3.5 Sistema linfático

Los vasos linfáticos más pequeños, los capilares linfáticos, forman una amplia red en el tejido conectivo. La pared del capilar linfático se compone de una capa única de células endoteliales. Por esta razón, estos capilares son difíciles de identificar en un corte histológico corriente. La linfa es absorbida desde el líquido tisular a través de las delgadas paredes hacia los capilares linfáticos. De éstos, la linfa pasa a vasos linfáticos



mayores, que a menudo están en la proximidad de los vasos sanguíneos correspondientes. Antes de que la linfa entre en el torrente sanguíneo, pasa por uno o más ganglios linfáticos, en los cuales se filtra la linfa y se incorporan los linfocitos. Los vasos linfáticos son como venas provistas de válvulas, la linfa de los tejidos periodontales drena hacia los ganglios linfáticos de la cabeza y del cuello. Excepto los terceros molares y los incisivos mandibulares, todos los dientes con sus tejidos periodontales adyacentes drenan hacia los ganglios submandibulares. Los terceros molares drenan hacia el ganglio linfático yugulodigástrico y los incisivos mandibulares hacia los ganglios linfáticos submentonianos.<sup>50</sup>

### 3.6 Inervación

Como los demás tejidos del organismo, el periodonto contiene receptores del dolor y de sensibilidad a la presión (mecanorreceptores). Específicamente, el ligamento periodontal contiene propioceptores, que aportan información sobre los movimientos y posiciones. Estos receptores junto con los propioceptores en músculos y tendones, desempeñan un papel esencial en el sistema de control de los movimientos mandibulares y de las fuerzas masticatorias.<sup>51</sup>

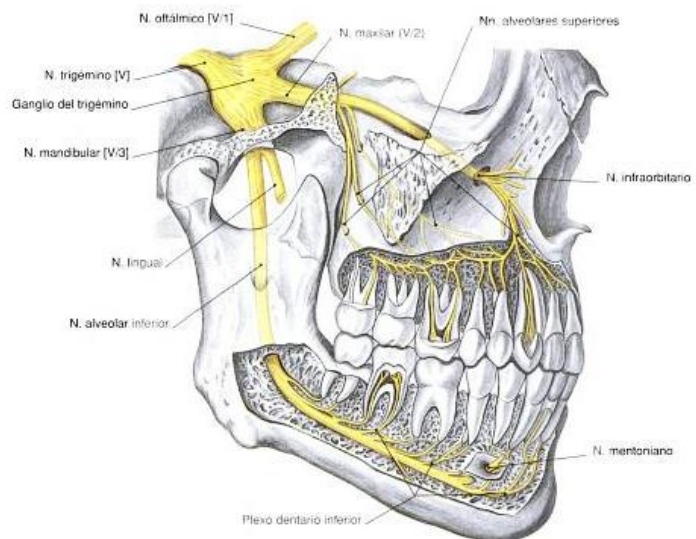


Fig. 2. Inervación de los tejidos dentarios y periodontales del maxilar y la mandíbula. Tomado de Sobotta, J. 2006



Además de los distintos tipos de receptores sensoriales que pertenecen al sistema nervioso somático, hay componentes nerviosos que inervan los vasos sanguíneos del periodonto y que pertenecen al sistema nervioso autónomo. Los nervios que registran dolor y presión tienen su centro trófico en el ganglio semilunar (o de Gasser), mientras que los nervios propioceptores tienen su centro trófico en el núcleo mesencefálico trigeminal, de ubicación más central. Ambos tipos de nervios llegan al periodonto por la vía del nervio trigémino y sus ramas terminales.

El ligamento periodontal de los dientes de la mandíbula está inervado por el nervio dentario inferior, mientras que el de los dientes del maxilar está inervado por el plexo dentario superior.<sup>52</sup>

Las fibras nerviosas aferentes sensitivas que inervan a los tejidos contienen neuropéptidos, que son sustancias de naturaleza proteica que se encuentran distribuidas en el sistema nervioso.<sup>53</sup>

Dentro de los neuropéptidos que se originan de fibras nerviosas sensoriales se incluyen la sustancia P (SP) y el Péptido Relacionado al Gen de la Calcitonina (CGRP). Sin embargo, también se ha reportado la presencia del neuropéptido Y (NPY) de origen simpático y el péptido vasoactivo intestinal (VIP) de origen parasimpático.<sup>54</sup>

La sustancia P es un polipéptido que se encuentra en concentraciones elevadas en las terminaciones nerviosas aferentes y es el mediador en la primera sinapsis de la vía del dolor lento. Se ha encontrado que SP está involucrada directamente en los cambios vasculares que ocurren durante el proceso inflamatorio y que se libera por excitación de fibras amielínicas tipo C. Cuando se produce la liberación de SP, interactúa con diferentes poblaciones de células inflamatorias, como los mastocitos produciendo liberación de histamina la cual causa una elevación en la presión sanguínea del tejido y un aumento de la permeabilidad vascular y potencial el efecto de las células inflamatorias.<sup>55, 56</sup>



Por otra parte, CGRP se localiza de manera abundante en los sistemas nerviosos central y periférico, tiene diversas funciones incluyendo el ser un neurotransmisor aferente primario. Este neuropéptido está involucrado en la nocicepción y mejora la excitación de un amplio rango de neuronas con receptores agonistas de NMDA o AMPA sugiriendo un papel en la modulación nociceptiva.<sup>57</sup>

Tanto SP y CGRP son sintetizados en los cuerpos neuronales y ambos son subsecuentemente transportados a la periferia donde ellos tienen efecto quimiotáctico en neutrófilos, macrófagos y linfocitos T; modulan la proliferación celular; influyen en la fagocitosis por parte de los macrófagos; estimulan la producción de citoquinas e inducen la rápida expresión de moléculas de adhesión celular endotelial con infiltración granulocítica en la piel humana.<sup>58</sup>

Es generalmente aceptado que por medio del sistema nervioso se contribuya a la patofisiología de la inflamación periférica, puesto que se ha observado que un componente neurogénico está implicado en muchas enfermedades inflamatorias, incluyendo la periodontitis.<sup>59,60</sup>

Al menos dos tipos de receptores sensoriales han sido reconocidos en el ligamento periodontal: nervios de terminaciones libres nociceptivas y terminaciones especializadas mecanoreceptivas de Ruffini.<sup>61,62</sup>

Las fibras nerviosas nociceptivas periodontales, es decir, las terminaciones nerviosas libres, son distribuidas uniformemente en el ligamento, mientras las terminaciones de Ruffini son localizadas desigualmente en el ligamento donde las fibras pueden ser fácilmente extendidas en respuesta a la oclusión. En el ligamento de un molar, las terminaciones de Ruffini están abundantemente presentes en el tercio apical del ligamento, mientras en el incisivo de un roedor, éstas están localizadas en la mitad alveolar del ligamento periodontal lingual.



Los nociceptores se clasifican en 3 tipos: los tipo I son estimulados por bradiquinina, sustancia P o histamina; mientras que los tipo II presentan afinidad por ATP. Además los nociceptores tipo I y II son regulados a través de SP-NK1 y receptor espinal de transmisión glutamato-NMDA respectivamente. Sin embargo, ambos receptores también se localizan en fibras sensibles a la capsaicina. En contraste con el tipo I y II, los nociceptores tipo III son activados por agonistas a los receptores de prostaglandinas  $I_2$  y son mediados por fibras insensibles a capsaicina y por transmisión espinal a través de receptores a glutamato NMDA, probablemente por una señalización por medio de fibras  $A\delta$ .<sup>63</sup>

Aunque existen varios tipos de mecanorreceptores; numerosos estudios muestran que las terminaciones de Ruffini tipo II con receptores de estiramiento son los principales mecanorreceptores en el ligamento.<sup>64</sup>

Morfológicamente, los elementos axonales de las terminaciones periodontales de Ruffini están caracterizados por extensas ramificaciones y la asociación con células de Schwann llamadas lamelas o células de Schwann terminales las cuales poseen núcleo en forma de riñón. Las terminaciones de Ruffini son parcialmente rodeadas por láminas de las células de Schwann. Las terminaciones cutáneas de Ruffini difieren de las terminaciones periodontales de Ruffini en que éstas carecen de una cápsula de colágeno.<sup>65</sup>

Por otra parte, factores ambientales podrían también contribuir al desarrollo y mantenimiento de las terminaciones de Ruffini. Algunos estudios revelan que la maduración morfológica de las terminaciones de Ruffini está estrechamente relacionada a la erupción del diente; las terminales arborizadas de las terminaciones periodontales de Ruffini del incisivo tienen lugar después de la erupción de los incisivos y se completa poco después del comienzo de la oclusión de los molares

Se ha demostrado que la reducción de las fuerzas oclusales altera la morfología de los axones de las terminaciones periodontales de Ruffini de los incisivos de la rata. Estos



datos morfológicos, nos guían a especular que es requerida la apropiada estimulación mecánica para la maduración de las terminaciones de Ruffini durante el desarrollo.<sup>66</sup>

Cuando un nervio periférico es lesionado, la degeneración ocurre distal al sitio de la lesión y entonces la regeneración comienza. Por lo cual se ha establecido que el periodo de la regeneración de un nervio periférico dependa de la severidad del daño al nervio, un daño severo prolonga la regeneración del nervio. Un trauma o extracción dental frecuentemente daña el nervio alveolar inferior el cual inerva a la pulpa dental, el ligamento periodontal y la gíngiva de la mandíbula. Estudios previos confirman que la regeneración de fibras nerviosas del periodonto es más rápida seguida de la lesión por aplastamiento del nervio dental inferior que después del corte transversal de éste. Se especula fácilmente que el daño severo como la resección a éste nervio podría postergar la regeneración de las fibras nerviosas periodontales.

Al juzgar por sus propiedades citoquímicas, las células de Schwann son divididas en dos fenotipos: formadoras de mielina y no formadoras de mielina. Las células de Schwann asociadas con las terminaciones periodontales de Ruffini son células no formadoras de mielina. Las células de Schwann juegan un importante papel durante la regeneración de los nervios periféricos, promoviendo la regeneración de axones tras el daño al nervio. En la rata la sección del nervio dental inferior provoca un incremento de células inmunoreactivas a la proteína S-100 en la zona intermedia y en la parte del ligamento relacionada a la raíz. Estas células probablemente proliferaron a partir de células de Schwann durante la regeneración de las fibras nerviosas periodontales, pero sin establecer contacto con los axones en regeneración.<sup>67</sup>

Durante el periodo de crecimiento, las fibras nerviosas reactivas a CGRP en el ligamento periodontal se encuentran de manera densa; sin embargo, decrecen gradualmente con el envejecimiento, lo cual indica que CGRP puede afectar al tejido periodontal en su crecimiento y envejecimiento.<sup>68</sup>





## **4. MODELOS DE ESTUDIO**

Para poder realizar la desnervación en los modelos de estudio, se utilizan dos métodos: la desnervación quirúrgica y la química.

### **4.1 Desnervación quirúrgica**

También denominada axotomía, es el método más ampliamente utilizado para estudiar las alteraciones en los niveles de neuroquímicos tras el daño al nervio periférico. Este tipo de daño interrumpe completamente el transporte axonal y no permite la regeneración del nervio. En contraste con la técnica de lesionar por compresión o ligar el nervio, que bloquea el transporte axonal sólo parcialmente y permite su posterior regeneración.<sup>69</sup> En el caso específico de las neuronas aferentes, el corte se realiza a nivel del ganglio trigeminal.

### **4.2 Desnervación química**

Para lograr la desnervación química en las células aferentes se ocupa capsaicina, la cual es conocida como un irritante para las fibras nerviosas además de ser el principal componente en los chiles rojos.<sup>70</sup>

Estos chiles, han sido consumidos en México desde los tiempos prehispánicos. La capsaicina, un condimento que provoca una sensación de quemazón, es popularmente usado por personas en las áreas tropicales, incluyendo India, Sur América, Sureste de Asia y África.

En 1878, un primer reporte de los efectos farmacológicos de la capsaicina notó que se producía una sensación de quemazón con hiperemia donde se puso la gota sobre la piel. Desde entonces sus efectos farmacológicos y fisiológicos han sido investigados por más de 100 años.<sup>71</sup>



La composición química de la capsaicina está representada por un anillo aromático (grupo 4-hidroxi, 3-metoxibenzil = vaniloide), amida acil, y una cadena alquilo. Su fórmula química es 8-metil-N-vainillil-6-nonenamida.

Cuando la capsaicina es aplicada en un estado neonatal, ésta actúa como neurotóxico, induciendo irreversiblemente y de manera específica la destrucción de pequeñas neuronas sensitivas primarias. En contraste, cuando la capsaicina es aplicada en un adulto, ésta causa un efecto desensibilizante reversible y selectivo, cuya sensación depende de la dosis y zona aplicada.<sup>72</sup>

Experimentos con animales han mostrado que la aplicación de capsaicina en la mucosa oral provoca una inflamación neurogénica aunada con la elevación del flujo sanguíneo en los tejidos gingivomucosales.<sup>73</sup> Mientras que la aplicación sistémica de capsaicina en roedores neonatales provoca una disminución de fibras primarias aferentes tipo C de la médula espinal, desmielinización de fibras de la raíz dorsal, disminución del diámetro de células ganglionares de la raíz dorsal.<sup>74</sup>

El daño o destrucción de las neuronas aferentes primarias por la capsaicina, resulta en una posterior inhibición de la inflamación neurogénica<sup>75</sup>

La inflamación neurogénica es un proceso en el cual los nervios que contienen neuropéptidos participarían en las reacciones inflamatorias locales en respuesta a la infección, toxinas o traumatismos. La estimulación de nervios sensoriales que contienen fibras C amielínicas con diversos estímulos como corriente eléctrica, mecánicos, por calor o por químicos nocivos (como formalina o aceite de mostaza), producen transmisión antidrómica potenciando la respuesta inflamatoria. Se produce entonces extravasación de líquidos de las vénulas post-capilares y un incremento en el flujo sanguíneo debido a la dilatación de las arteriolas, además de quimiotaxis de leucocitos polimorfonucleares y adherencia a la pared vascular. El más potente mediador de la inflamación neurogénica es la sustancia P.<sup>76</sup> Adicionalmente a su papel en la inflamación neurogénica, SP también está involucrada en la inflamación no



neurogénica. Los linfocitos, leucocitos, macrófagos y mastocitos, tienen receptores para SP, y pueden ser estimulados por ella para la producción de citoquinas. SP estimula además la hematopoyesis en la médula ósea, produciendo leucocitosis durante los estados inflamatorios. Los macrófagos estimulados por SP producen mediadores inflamatorios como PGE<sub>2</sub> y tromboxano B<sub>2</sub>.<sup>77</sup>

Hasta ahora, estudios recientes han confirmado que la estimulación de las fibras aferentes provoca vasodilatación e incremento en la permeabilidad vascular, los cuales son dos ejemplos de un amplio espectro de funciones periféricas de las terminaciones nerviosas sensitivas. Posiblemente las acciones de las terminaciones periféricas de las neuronas primarias aferentes del tejido adyacentes tienen también una activación inmunológica.<sup>78</sup>

Del mismo modo, la excitación de las neuronas (con fibras C nociceptivas) por la capsaicina es seguida por un estado de duración refractario, llamado desensibilización, en el que las neuronas no responden a una variedad de estímulos nocivos, por lo cual la desensibilización a la capsaicina tiene un claro potencial terapéutico para aliviar el dolor neuropático.<sup>79</sup>

La presencia de receptores farmacológicos específicos para la capsaicina nos indica la especificidad de ésta sobre las fibras aferentes entre las cuales algunas están implicadas en la vía del dolor.

Se ha identificado, gracias a una innovadora estrategia de clonación, al receptor de la capsaicina: el TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1), el cual es un canal de cationes no selectivos predominantemente expresado en las neuronas sensoriales especializadas que detectan los estímulos dolorosos. Aunque sus funciones principales continúan estudiándose, se ha confirmado que juegan un papel crítico en la percepción del dolor y de la hiperalgesia inflamatoria periférica.<sup>80</sup> El TRPV1 se activa bajo una amplia gama de condiciones incluyendo la inflamación y la lesión al nervio, se ha mostrado que sufre cambios en los niveles de expresión en condiciones patológicas.<sup>81</sup>



Mediante estudios de inmunocitoquímica se ha mostrado que el TRPV1 se expresa en neuronas nociceptivas centrales y periféricas. Este receptor puede activarse por calor y por protones lo que podría relacionarse en los casos de inflamación y anoxia.<sup>82</sup> Las acciones importantes de la capsacina, es decir el dolor producido por calor y vasodilatación, es explicado en base a la presencia de receptores vanilloides en las neuronas aferentes primarias.<sup>83</sup>

Estudios en neuronas han demostrado que en estado de reposo el canal TRPV1 está cerrado, y cuando el agonista se une a él induce un cambio conformacional y se abre el poro del canal. En consecuencia, el receptor para la capsaicina alterna su conformación favoreciendo la desensibilización.<sup>84</sup>

El TRPV1 se ha encontrado en pulpas de ratas. Este receptor es considerado un canal catiónico no selectivo altamente permeable a,  $Mg^{++}$ ,  $Na^{++}$ ,  $K^+$  y  $Ca^{++}$ . Este último es el segundo mensajero dominante en las neuronas sensoriales y regula diversos procesos incluyendo la diferenciación neuronal, la liberación de neurotransmisores, la excitabilidad, la expresión de genes la activación enzimática y la programación celular (apoptosis).<sup>85</sup>

Estudios *in vitro* han mostrado que la entrada masiva de  $Ca^{++}$  a la célula puede producir daños irreversibles a las neuronas tipo C en cultivo, que incluyen la formación de vesiculación de la mitocondria y el retículo endoplásmico, ruptura de la membrana nuclear y lisis de la célula. Aunado a esto se ha observado la presencia de pseudocanales y alteración en la permeabilidad de la membrana celular.<sup>86</sup>

Cuando el TRPV1 es activado en las fibras tipo C, aumenta la entrada de  $Ca^{++}$  y otros iones produciendo una despolarización de la membrana celular favoreciendo la liberación de SP y CGRP. Es importante señalar que las dosis requeridas para la despolarización de las neuronas es mucho menor que la requerida para inducir efectos en otros tipos celulares.<sup>87</sup>



Por otra parte, se ha observado que la capsaicina local o sistémica disminuye las cantidades de SP en las terminaciones nerviosas de las fibras tipo C, debido a que la membrana celular de las neuronas ubicadas en estas terminaciones nerviosas, tienen receptores específicos para la capsaicina.

Estudios experimentales han demostrado que la administración subcutánea neonatal de capsaicina reduce SP en el cuerno dorsal de la médula espinal. Del mismo modo, el tratamiento con capsaicina provoca la destrucción de las neuronas primarias peptidérgicas al interferir con la acción del NGF (Factor De Crecimiento Nervioso) además del daño mitocondrial en las neuronas supervivientes dando como resultado una reducción del contenido de SP en adultos.<sup>88</sup>

Además de liberar SP, se ha determinado que la estimulación de las fibras sensoriales causa la vasodilatación pulpar provocando una liberación de neuropéptidos como CGRP. Investigaciones previas han revelado que estos neuropéptidos sensoriales, en adición a respuestas vasculares (por ejemplo la acción refleja del axón y la inflamación neurogénica) podrían también estimular al sistema inmunológico y afectar a los procesos tróficos. Por lo cual se considera que las fibras SP érgicas y CGRP érgicas son marcadores clásicos de las fibras sensibles a la capsaicina.<sup>89</sup>

Diversos estudios han confirmado que la administración de capsaicina causó una reducción significativa en el número de fibras inmunoreactivas a CGRP y SP en la pulpa y en los tejidos periodontales.<sup>90,91</sup>

Todo lo anterior nos permite pensar que los efectos de la administración de la capsaicina dependen de la edad del animal, del mismo modelo, de la dosis y la vía de administración.



## **HIPÓTESIS**

De acuerdo a las evidencias inmunohistoquímicas existentes, se ha demostrado que el ligamento periodontal ostenta una rica inervación sensorial, la cual al ser eliminada químicamente afectará la función y organización de esta estructura.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- \* Analizar el papel de la inervación sensorial en el ligamento periodontal de la rata prepúber.

### **Objetivos particulares**

- \* Determinar el área del ligamento periodontal del primer molar de la rata prepúber, denervada al nacimiento con capsaicina.
- \* Determinar el número de fibroblastos del ligamento periodontal del primer molar de la rata prepúber, denervada al nacimiento con capsaicina.

## **DISEÑO MÉTODOLÓGICO**

### **TIPO DE ESTUDIO**

Experimental, casos y controles.

### **POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Ratas hembras vírgenes de la cepa CII ZV de tres meses de edad, mantenidas en condiciones convencionales de bioterio. En el día del proestro se colocaron con un macho de fertilidad comprobada y la presencia de espermatozoides en la vagina se consideró como día 1 de preñez. Se registró la fecha del parto y en cada caja se dejaron con la madre 6 crías hembras y un macho.



## **Muestra**

La muestra se tomó por cuotas, quedando establecidas de 6 ratas:

- \* Grupo TA (testigo absoluto) 3 ratas recién nacidas que no recibieron tratamiento alguno.
- \* Grupo CAPS (capsaicina), 3 ratas tratadas al nacimiento con capsaicina.

Todos los animales se sacrificaron al presentar el primer estro vaginal.

## **Criterios de inclusión**

Aquellas ratas hembras que fueron tratadas con capsaicina y que presentaron ulceraciones en la piel a nivel de la cabeza y cuello, ojos opacos y sin brillo antes de la pubertad. Lo cual indica que el medicamento eliminó la sensibilidad de la zona y las ratas no controlaron la intensidad y frecuencia del reflejo natural de rascado, produciéndose, con el paso de los días, lesiones.

Tanto en grupo testigo como en las tratadas con capsaicina, se incluyeron las ratas que presentaron canalización vaginal, parámetro que señala el inicio de la pubertad en la rata.

Cortes histológicos en cuales se observaron los primeros molares inferiores completos.

## **Criterios de exclusión**

Se excluyeron aquellas ratas a las que se les administró capsacinia y no mostraron ulceraciones en la piel a nivel de la cabeza y cuello, ojos opacos y sin brillo antes de la pubertad.

En ambos grupos (testigo y tratadas con capsaicina) se excluyeron las ratas que no presentaron canalización vaginal.

En cuanto a los cortes histológicos, fueron excluidos aquellos en los que no se encontró el primer molar mandibular, estuvo incompleto o mal procesado, dejando así los cortes en los cuales se observó con claridad el primer molar inferior.



### ***Criterios de eliminación***

Quedaron eliminadas de la investigación ratas de cualquiera de los dos grupos que murieron por causas ajenas.

Cortes histológicos en los cuales se perdió parte del tejido durante el procesamiento.

## **VARIABLES**

### ***Variables dependientes***

<b>VARIABLE</b>	<b>DEFINICIÓN</b>	<b>CLASIFICACIÓN</b>	<b>NIVEL DE MEDICIÓN</b>
<b>Grupo de estudio</b>	<b>Especímenes que se estudiarán.</b>	<b>Cualitativa nominal</b>	<b>Grupo 1 → TA Grupo 2 → CAPS</b>
<b>Área total de superficie del ligamento periodontal</b>	<b>Extensión de tejido conectivo que se encuentra entre hueso compacto y cemento.</b>	<b>Cualitativa ordinal</b>	<b>Disminución &lt; 0.10- 0.38mm<sup>2</sup> &lt; aumento</b>
<b>Área Mesial del ligamento periodontal</b>	<b>Área total de superficie del ligamento en cara mesial del primer molar inferior izquierdo, con analizador de imágenes Motic Advance</b>	<b>Cualitativa ordinal</b>	<b>Disminución &lt; 0.03m<sup>2</sup>- 0.12 &lt; aumento<sup>92</sup></b>
<b>Área Interradicular del ligamento periodontal</b>	<b>Área total de superficie del ligamento en cara interradicular del primer molar inferior izquierdo, con analizador de imágenes Motic Advance</b>	<b>Cualitativa ordinal</b>	<b>Disminución &lt; 0.03m<sup>2</sup>- 0.12 &lt; aumento</b>
<b>Área Distal del ligamento periodontal</b>	<b>Área total de superficie del ligamento en cara distal del primer molar inferior izquierdo, con analizador de imágenes Motic Advance</b>	<b>Cualitativa ordinal</b>	<b>Disminución &lt; 0.03m<sup>2</sup>- 0.12 &lt; aumento</b>
<b>Presencia de fibroblastos</b>	<b>Células alargadas que se presentan entre las fibras del ligamento periodontal de manera azarosa.</b>  <b>Número de fibroblastos en área de superficie del ligamento del primer molar inferior izquierdo, con microscopio óptico a 40x.</b>	<b>Cuantitativa Discreta</b>	<b>Número de fibroblasto/mm<sup>2</sup></b>





### ***Variables independientes***

<b>VARIABLE</b>	<b>DEFINICIÓN</b>	<b>CLASIFICACIÓN</b>	<b>NIVEL DE MEDICIÓN</b>
<b>Administración de capsaicina</b>	<b>Crías hembras recién nacidas que se les administrará subcutáneamente 50mg/kg de capsaicina (8-metil-N-vainillil-6-nonenamida) un vanilloide natural que se obtiene del chile, provoca destrucción de fibras nerviosas sensoriales.</b>	<b>Cuantitativa Continua</b>	<b>Sí No</b>

### **TÉCNICAS**

Se utilizaron ratas hembras vírgenes de la cepa CII ZV de tres meses de edad mantenidas en condiciones convencionales de bioterio, 14 horas de luz (5:00 a 19:00) y 10 horas de oscuridad. Agua y alimento *ad libitum*. En el día del proestro se colocaron con un macho de fertilidad comprobada y la presencia de espermatozoides en la vagina se consideró como el día 1 de preñez.

A las crías hembras recién nacidas se les administró subcutáneamente 50 mg/kg de capsaicina (8-metil-N-vainillil-6-nonenamida), puesto que se ha comprobado que la administración de capsaicina en ratas neonatas provoca la pérdida de fibras sensoriales no mielinizadas y por lo tanto los animales no responden apropiadamente a estímulos dolorosos,<sup>93</sup> causando que las ratas aumenten el reflejo de rascado a nivel cervical y con el paso de los días se observen úlceras en esta zona como resultado de la desensibilización. En cuanto a la dosis, diversos estudios han comprobado que esta cantidad es suficiente para depletar completamente las fibras sensoriales.<sup>94,95,96</sup> Una vez inyectados los animales se integraron a su camada. Un grupo más de animales no recibió tratamiento y constituyó el grupo testigo absoluto.



Cuando los animales presentaron canalización vaginal (parámetro que marca el inicio de la pubertad en la rata) se les realizó un frotis vaginal diario y se sacrificaron en la mañana del primer estro por decapitación.

Para el análisis histomorfométrico las mandíbulas izquierdas de cada grupo experimental se fijaron en formol al 10%, se incluyeron en parafina. Posteriormente, se realizaron cortes seriados a 20  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina-eosina.<sup>97</sup> Para la selección de laminillas se tomaron en cuenta los criterios de inclusión, exclusión y eliminación (previamente ya descritos) y de estas laminillas se realizaron mediciones en cada tercer corte. De esta manera, se obtuvieron un promedio de 40 cortes a medir por cada rata, tanto del grupo a estudiar como del testigo absoluto.

La medición de área y el conteo de fibroblastos se realizó con un analizador de imágenes Motic imágenes Group Co. LTD (Software para microscopio que se utiliza para analizar y procesar imágenes 2D de cualquier tipo).

#### *Fijación y descalcificación del tejido:*

- \* Fijación del material en formol al 10%, por 24 hrs.
- \* Lavado con agua corriente por 10 min.
- \* Colocación en solución de ácido clorhídrico al 10% (Dejar por 48 hrs. a temperatura ambiente).
- \* Lavado con agua corriente por 10 min.
- \* Colocar en alcohol al 100%
- \* Repetir paso anterior
- \* Pasar por alcohol al 96%
- \* Colocar en alcohol al 60%
- \* Incluir en parafina



*Tinción con técnica eosina-hematoxilina:*

1. Dejar secar los cortes, 24 hrs.
2. Colocar en xilol durante 30 min.
3. Cambiar la solución xilol y dejar por 10 min.
4. Lavar con alcohol al 96%
5. Colocar en agua destilada por 5 min.
6. Dejar escurrir el excedente de agua
7. Colocar en solución de hematoxilina de Mayer por 10 min.
8. Dejar escurrir el excedente de hematoxilina
9. Colocar en agua corriente por 10 min.
10. Dejar escurrir el excedente de agua
11. Teñir con eosina de 1 a 2 min.
12. Lavar con alcohol al 96%
13. Colocar en carboxilo por 5 min.
14. Cambiar al xilol
15. Montar los cortes en bálsamo de Canadá

## **DISEÑO ESTADÍSTICO**

Los resultados de las áreas histológicas medidas y la cuantificación del número de fibroblastos se analizaron con la prueba “t” de Student. Se aceptaron diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor a 0.05.



## RECURSOS

### RECURSOS HUMANOS:

- \* Un director
- \* Un asesor
- \* Un pasante

### RECURSOS BIOLÓGICOS

- \* Ratas hembras recién nacidas de la cepa CII-ZV

### RECURSOS MATERIALES:

- \* Capsaicina(8-metil-N-vainillil-6-nonenamida)
- \* Solución salina
- \* Etanol
- \* Agua corriente
- \* Formol al 10%
- \* Ácido clorhídrico al 10%
- \* Alcohol al 100%, 96% y 60%
- \* Parafina
- \* Xilol
- \* Agua destilada
- \* Hematoxilina de Mayer
- \* Eosina
- \* Carboxilo
- \* Bálsamo de Canadá

### RECURSOS FÍSICOS:

- \* Bioterio CII
- \* Laboratorio de producción. Ubicado en UNAM, FES Zaragoza, Campo I, laboratorio L222.
- \* Laboratorio de Histología. Ubicado en UNAM, FES Zaragoza, Campo I, laboratorio L113.

- \* Instrumental de disección
- \* Guillotina
- \* Portaobjetos
- \* Frascos
- \* Mechero
- \* Microtomo
- \* Microscopio óptico
- \* Analizador de imágenes (MOTIC)
- \* Computadora
- \* Paquete estadístico SPSS for Windows 17 (2008)
- \* Memoria USB
- \* Calculadora
- \* Hojas de papel
- \* Plumas

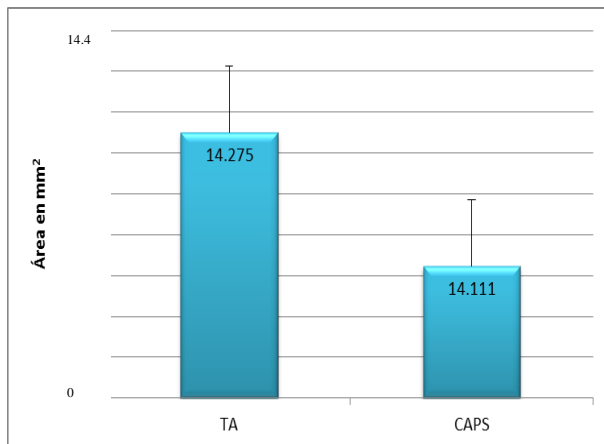
## PRESENTACIÓN DE RESULTADOS



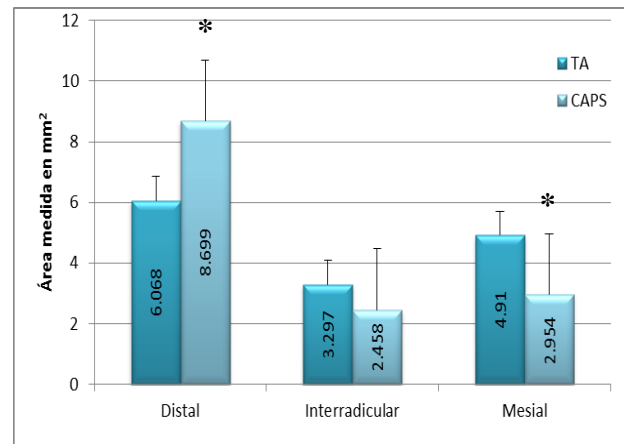
Figura 3. Primer molar inferior de la rata prepuber sin tratamiento alguno. Imagen tomada con microscopio óptico con objetivo de 5x.



Figura 4. Primer molar inferior de la rata prepuber tratada con capsaicina. Imagen tomada con microscopio óptico con objetivo de 5x.



Gráfica 1. Área total del ligamento periodontal del primer molar inferior izquierdo de la rata del grupo testigo (TA) y del grupo tratado con capsaicina al nacimiento (CAPS).



\* p < 0.05 CAPS vs TA (Prueba "t" de Student)  
Gráfica 2. Área del ligamento periodontal en las raíces del primer molar inferior izquierdo de la rata del grupo testigo (TA) y del grupo tratado con capsaicina al nacimiento (CAPS).

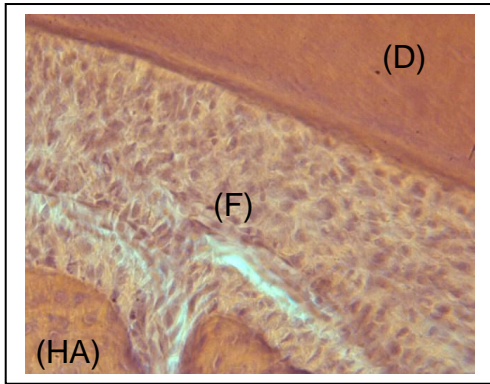


Figura 5. Fibroblastos presentes en el primer molar inferior izquierdo de la rata prepúber sin tratamiento alguno. Fibroblastos (F), hueso alveolar (HA) y dentina radicular (D). Imagen tomada con microscopio óptico. Resolución 400x. Tinción hematoxilina-eosina.

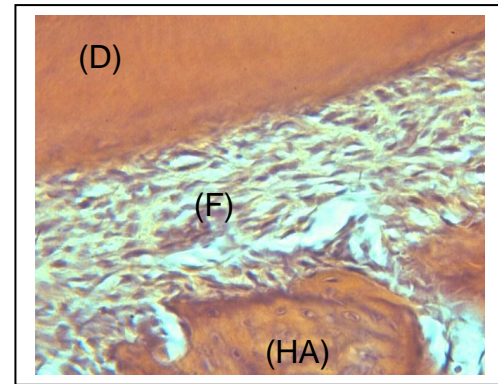
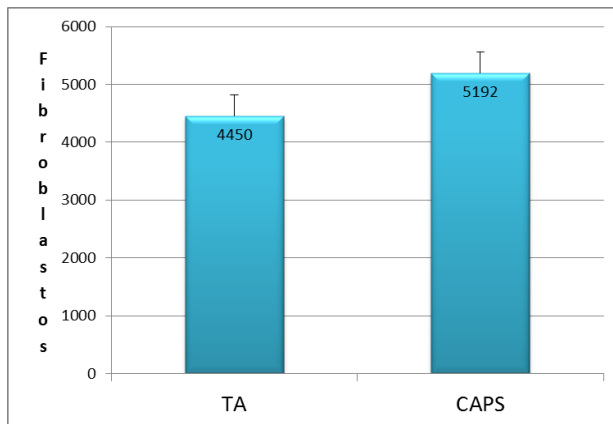
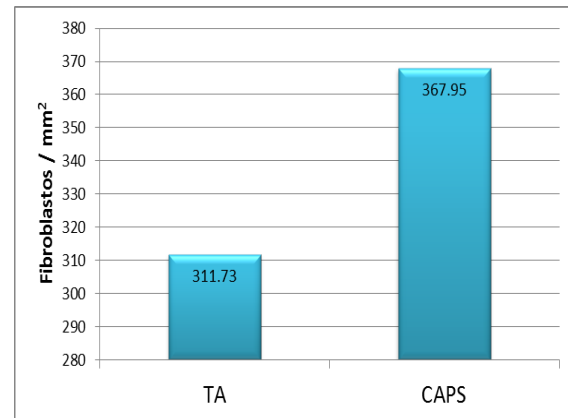


Figura 6. Fibroblastos presentes en el primer molar inferior izquierdo de la rata prepúber tratada con capsaicina. Fibroblastos (F), hueso alveolar (HA) y dentina radicular (D). Imagen tomada con microscopio óptico. Resolución 400x. Tinción hematoxilina-eosina.



Gráfica 3. Número de fibroblastos en el ligamento periodontal del primer molar inferior izquierdo de la rata del grupo testigo (TA) y del grupo tratado con capsaicina al nacimiento (CAPS).



Gráfica 4. Densidad de fibroblastos en el ligamento periodontal del primer molar inferior izquierdo de la rata del grupo testigo (TA) y del grupo tratado con capsaicina al nacimiento (CAPS).



## ANÁLISIS DE RESULTADOS

### **Análisis cualitativo**

En el análisis histológico se pudo apreciar que las ratas denervadas con capsaicina presentaron un menor desarrollo de las raíces sobretodo en la región mesial (Fig. 4) a diferencia del grupo testigo (Fig. 3).

Al observar a mayor aumento, podemos notar diferencias en la morfología de los fibroblastos (Fig. 5 y 6).

### **Análisis cuantitativo**

Al realizar la medición del área total del ligamento periodontal, observamos una disminución no significativa en el grupo CAPS (Gráfica 1). Sin embargo, al analizar el área en cada una de las raíces, observamos diferencias estadísticamente significativas en la raíz distal y mesial, teniendo en la primera un aumento y en la segunda una disminución en el área de las ratas tratadas con capsaicina en comparación con las del grupo testigo (Gráfica 2).

Por otra parte, en cuanto al número de fibroblastos, el grupo tratado con CAPS presentó un aumento que no llegó a ser estadísticamente significativo en comparación al grupo TA. (Gráfica 3) Al realizar una comparación entre la densidad de fibroblastos en el área total del ligamento tampoco se observaron diferencias significativas (Gráfica 4).

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Tal como ha sido reportado por otros autores<sup>98,99</sup> Nuestro estudio mostró que las ratas tratadas con capsaicina presentaron, en la etapa peripuberal, ulceraciones en piel a nivel de la cabeza y cuello, ojos opacos y sin brillo (datos no presentados), indicativo de una denervación sensorial irreversible. Puesto que, la administración subcutánea de la capsaicina en neonatos depleta los péptidos neurotransmisores del dolor<sup>100</sup>, causando



atenuación de los estímulos térmicos y dolorosos en sus estados postnatales como evidencia de la eliminación de las fibras aferentes no mielinizadas.<sup>101</sup>

En cuanto al análisis histológico, los primeros molares inferiorestratados con capsacina y vistos con microscopio óptico aun aumento de 50x, muestran diferencias en el grado de desarrollo de las raíces con respecto al grupo testigo. Lo cual concuerda con lo reportado por Vandevska-Radunovic, donde encontraron evidencia de que neuropéptidos como SP y CGRP participan en la regulación de la odontogénesis.<sup>102</sup> Así que la capsacina al inhibir estos neuropéptidos de las fibras nerviosas aferentes, modifica de manera inhibitoria el desarrollo de las estructuras dentarias. Nuestros datos apoyan la idea de que la inervación sensorial participa en la odontogénesis.

De igual manera Fristad y col., encontraron fibras inmunoreactivas a CGRP y SP al inicio de la formación del ligamento periodontal.

En cuanto al área total de ligamento periodontal observamos una disminución no significativa en las ratas a las cuales se les administró capsacina en comparación con el grupo testigo. Sin embargo, es interesante mencionar que existe una variación al observar las raíces de forma individual, puesto que en la raíz distal del primer molar mostró un incremento del área. Lo cual puede sugerir que la inervación sensorial no es uniforme en todas las raíces, y dado que la raíz distal se localiza anatómicamente más cerca del nervio dentario inferior nos haría pensar que la densidad de fibras sensoriales es diferente. En apoyo a lo anterior, Atsumi y col. Muestran que cuando un nervio es lesionado, la degeneración ocurre distal al sitio de la lesión, que en el presente caso, está representado por la raíz mesial.<sup>103</sup>

Con respecto a este punto, nuestro equipo de trabajo ha estudiado previamente los efectos de la denervación sensorial en dentina<sup>104</sup> y hueso alveolar de la rata prepúber<sup>105</sup>, y ha mostrado que la administración de capsacina produce en la zona distal un efecto estimulador provocando un incremento en el área de dentina distal y una mayor síntesis de hueso alveolar en esta misma área. Así mismo, dichos estudios mostraron,





en cuanto a la zona mesial, una reducción en la cantidad de dentina en la cara mesial y una disminución en la cantidad de hueso alveolar del primer molar mandibular. Lo anterior permite sugerir que la inervación sensorial juega un papel inhibitorio en la formación de dentina y tejidos de soporte en la zona distal y cumple con una función estimuladora la formación de dichos tejidos en el área mesial desde etapas tempranas.<sup>106,107</sup> Dichos resultados nos hacen pensar que la inervación sensorial regula de manera diferencial las regiones del diente y sus tejidos de soporte, lo cual podría estar relacionado con diferencias en el número y distribución de las fibras sensoriales en el diente.

Por otra parte, en cuanto al número total de fibroblastos, observamos un aumento que no fue estadísticamente significativo en el grupo al cual se le aplicó capsaicina. Lo cual contrasta con los resultados de Ko y col. Donde mostraron que los fibroblastos tienen receptores para capsaicina y dentro de las acciones reportadas están incluidas la apoptosis, la diferenciación y proliferación celular, la producción de colagenasa y de prostaglandina E<sub>2</sub>.<sup>108</sup> Del mismo modo, se ha mostrado que los fibroblastos pulpaes presentan receptores a capsaicina y que la información sensorial participa en los procesos de apoptosis, diferenciación y proliferación celular.

Estudios realizados *in vitro* con fibroblastos de piel han demostrado un descenso en el número de células cultivadas con capsaicina al 0.025% y al 0.2% p/v.<sup>109</sup> En nuestro estudio observamos un aumento estadísticamente no significativo del número de fibroblastos en los animales con denervación inducida con capsaicina.

Aunque Ko y colaboradores indican que los fibroblastos que fueron expuestos a capsaicina se redujeron en 5% a 10% durante las primeras 6 horas de exposición y en 30% después de 24 horas;<sup>110</sup> nuestros datos indican un aparente aumento en el grupo tratado con capsaicina; sin embargo este efecto puede deberse a la dosis y a que no se está considerando el área de la raíz, puesto que se observa una mayor densidad de fibroblastos en este grupo. La diferencia con el estudio realizado por el grupo de Ko y col., 1995 es el modelo utilizado ya que su estudio es *in vitro*, utilizan fibroblastos de la



dermis y la dosis utilizada fue mucho mayor. Sin embargo, nuestros resultados apoyan la idea de que las fibras sensibles a la capsaicina del ligamento periodontal si bien no afecta la proliferación de los fibroblastos, sí estimula su actividad (producción de fibras).

Del mismo modo, cabe considerar que el ligamento periodontal además de contener fibroblastos, también alberga otros tipos de células como los restos de Malassez, los cuales han reportado una relación cercana con las terminaciones nerviosas periodontales. Además algunas células de estos restos han expresado inmunoreactividad hacia neuropéptidos tales como el péptido vasoactivo intestinal (VIP) y la sustancia P.

Por otra parte, se sabe que los órganos dentarios y sus tejidos de soporte además de recibir inervación de tipo sensorial del ganglio trigeminal, también presentan fibras nerviosas simpáticas provenientes del ganglio cervical superior<sup>111</sup>, las cuales se encuentran predominantemente en asociación con las arteriolas y cuyas funciones principales son la de regular el flujo sanguíneo y como modulador de la inflamación en los tejidos orales.<sup>112</sup>La inervación autónoma está constituida por las fibras amielínicas de tipo C simpáticas, los axones provienen del ganglio cervical superior. Se han demostrado en periodonto fibras nerviosas inmunoreactivas a VIP y NPY de origen simpático<sup>113</sup>

Se ha mostrado que la simpatectomía en la rata provoca un incremento de fibras del ligamento periodontal. Existen evidencias que muestran que al eliminar un tipo de inervación sensorial se incrementa la simpática y al eliminar las simpáticas se incrementa la sensorial. Es probable que en nuestro trabajo se haya presentado este tipo de efecto “compensatorio” tal y como ya ha sido propuesto por Haug y Heyeraas.<sup>114</sup>Lo cual nos puede hacer pensar que tanto la inervación sensorial como la simpática juegan un papel importante para el desarrollo de dichas estructuras.

La remodelación del ligamento periodontal y la nueva formación tanto de cemento como hueso pueden ser observadas durante los movimientos dentarios en ortodoncia.



Mientras la regeneración del periodonto en menor grado puede ser vista en las fases tempranas de la enfermedad periodontal, la principal causa de pérdida dentaria, una vez que la enfermedad inicia la regeneración espontánea no ocurre sin la intervención de alguna forma de tratamiento.

El proceso de regeneración periodontal incluye el reclutamiento de poblaciones celulares locales con la capacidad de convertirse en cualquiera de las células formadoras del ligamento que formen conexiones entre el cemento y el hueso alveolar adyacente.

La aplicación clínica de este trabajo puede verse reflejada en el área de periodoncia. Adicionalmente, la aplicación de capsaicina de manera tópica podría reducir la inflamación que se suscita en las enfermedades periodontales.

Por otra parte, también sería interesante su empleo en ortodoncia e implantología.

## **CONCLUSIONES**

La inervación sensorial participa en la regulación de la estructura del ligamento, puesto que observamos una disminución en el área total de este tejido tras la administración de capsaicina.

La regulación de la inervación sensorial sobre la estructura del ligamento es diferencial, mientras que en la región distal inhibe, en la mesial estimula su desarrollo.

La inervación sensorial regula de manera estimuladora la actividad de los fibroblastos del ligamento periodontal.



Figura 7. Diagrama propuesto para explicar el efecto de la denervación sensorial con capsaicina sobre el ligamento periodontal de rata prepúber. La administración de capsaicina en etapa neonatal destruye las fibras nerviosas sensoriales con receptores TRPV1, lo cual causa una disminución de CGRP y SP, que modifican el área del ligamento periodontal y la actividad de los fibroblastos

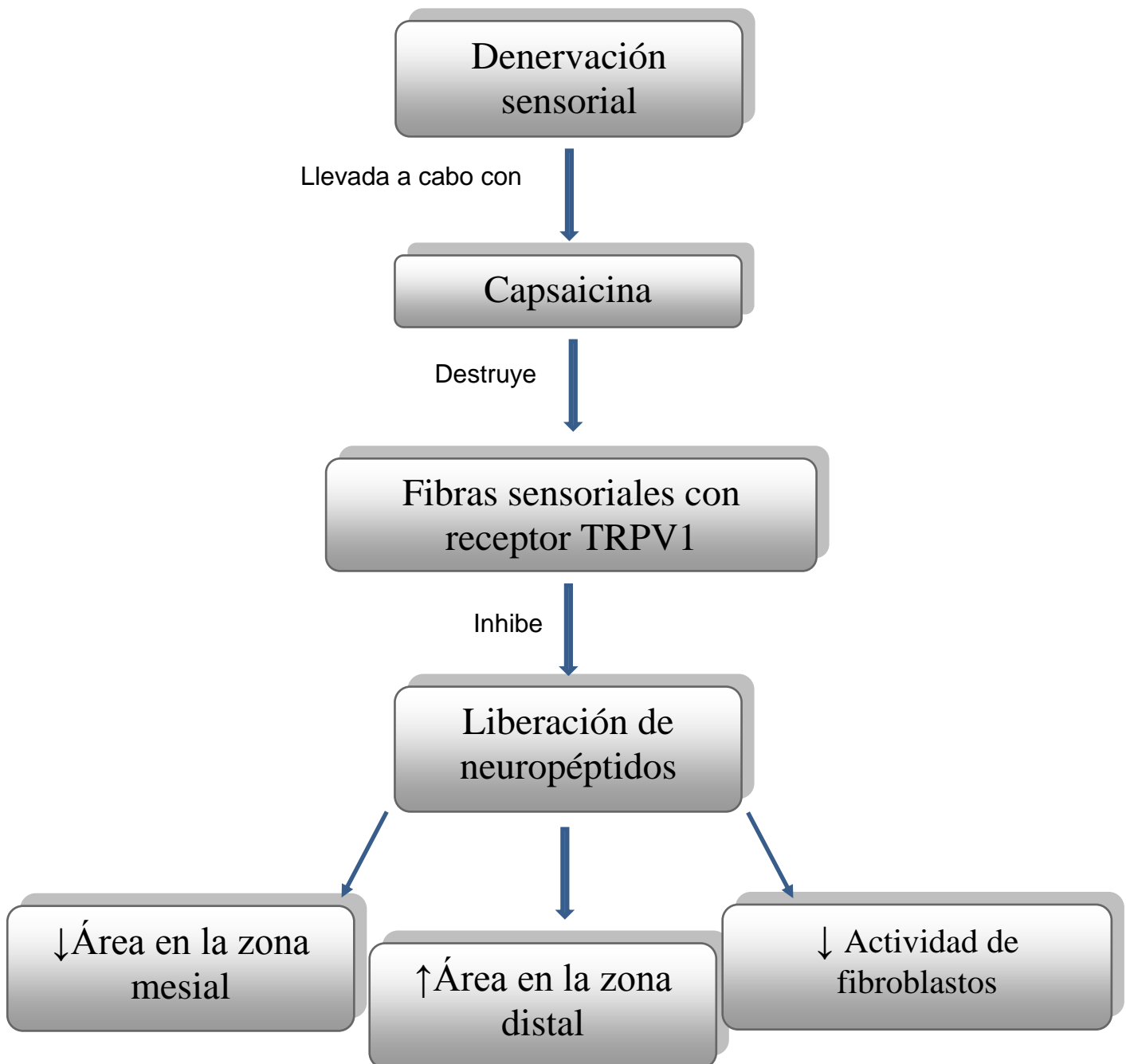
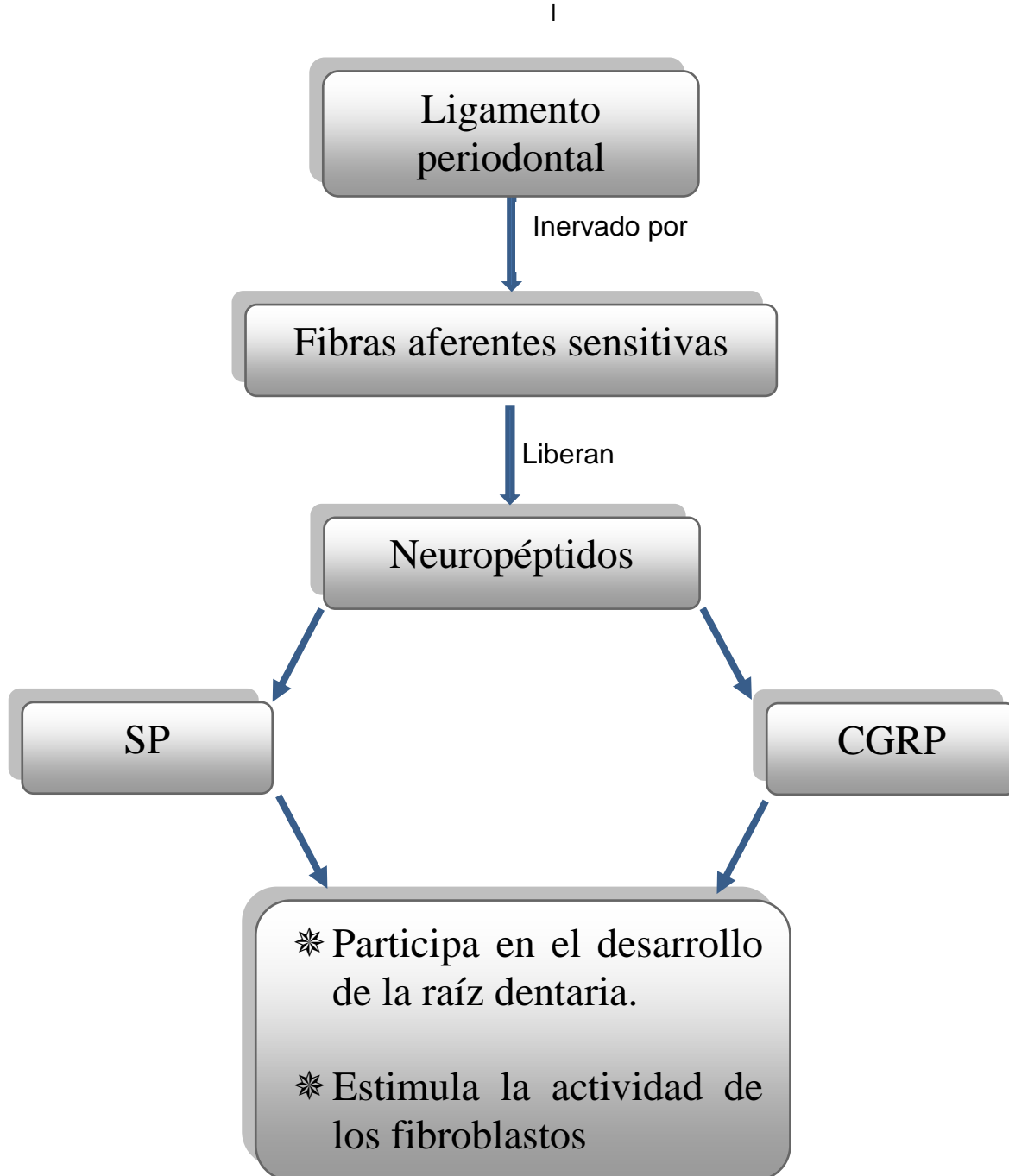




Figura 8. Diagrama propuesto para explicar la participación de la inervación sensorial sobre el ligamento periodontal de la rata prepúber. El ligamento periodontal contiene fibras nerviosas sensitivas provenientes del trigémino que liberan CGRP y SP. Los cuales se ha comprobado que intervienen durante la formación de la raíz dental.





## **PROPUESTAS**

Después de concluir esta investigación y con el objetivo de profundizar en el conocimiento de la inervación en los tejidos orales, recomendamos llevar a cabo los siguientes puntos:

- \* Realizar más estudios sobre esta área que refuercen y enriquezcan nuestros resultados.
- \* Considerar la realización de estudios de inmunocitoquímica que permitan determinar la distribución de fibras sensoriales con receptor TRPV1 en las diferentes zonas del ligamento periodontal así como por el tipo de neurotransmisor (SP y CGRP).
- \* Estudiar el efecto de la inervación sensorial en otros tejidos orales tales como encía y pulpa, con el fin de tener una idea integral sobre el efecto de la inervación sensorial sobre los tejidos orales.
- \* Llevar a cabo estudios sobre el papel de la inervación simpática en el ligamento periodontal.
- \* Efectuar estudios específicos para conocer a detalle la participación de la inervación sensorial en los cambios en la actividad de los fibroblastos.
- \* Realizar cuantificación de fibroblastos por cada zona de la raíz y verificar si hay algún cambio.
- \* Continuar con la línea de investigación sobre la inervación del ligamento periodontal con la finalidad de que los resultados obtenidos sean útiles para la práctica clínica especialmente en las áreas de periodoncia, ortodoncia e implantología.



## REFERENCIAS

- <sup>1</sup> Fehrenbacher, J. C. *et al.* Capsaicin-evoked iCGRP release from human dental pulp: a model system for the study of peripheral neuropeptide secretion in normal healthy tissue. *Pain*, 2009, 144(3):253-61
- <sup>2</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>3</sup> Jacobsen E. y Heyeraas K. J. Effect of capsaicin treatment or inferior alveolar nerve resection on dentine formation and calcitonin gene-related peptide- and substance P-immunoreactive nerve fibres in rat molar pulp. *Archives of Oral Biology*, 1997, 41:1121-31
- <sup>4</sup> Wakisaka, S. *et al.* Neuropeptide Y-immunoreactive primary afferents in the dental pulp and periodontal ligament following nerve injury to the inferior alveolar nerve in the rat, *Brain Research*, 1996, 712:11-8
- <sup>5</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>6</sup> Alexandru D.P. y Gil Y. Topical capsaicin. The fire of a 'hot' medicine is reignited, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2010, 11(8):1359-71
- <sup>7</sup> Szallasi, A. Vanilloid receptor ligands: hopes and realities for the future. *Drugs Aging*, 2001, 18(8):561-73
- <sup>8</sup> Jacobsen E. y Heyeraas K. J. Effect of capsaicin treatment or inferior alveolar nerve resection on dentine formation and calcitonin gene-related peptide- and substance P-immunoreactive nerve fibres in rat molar pulp. *Archives of Oral Biology*, 1997, 41:1121-31
- <sup>9</sup> Lars Rosén C. *et al.* An immunocytochemical study of the innervation of developing human fetal teeth using protein gene product 9.5 (PGP .5) *Archives of Oral Biology*, 1993, 38(12):1113-20
- <sup>10</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>11</sup> Satoshi W. y Yukako Atsumi. Regeneration of Periodontal Ruffini Endings in Adults and Neonates, *Microscopy Research and Technique*, 2003, 60:516-27.
- <sup>12</sup> Ioi H., *et al.* Capsaicin receptor expression in the rat temporomandibular joint. *Cell Tissue Res.*, 2006, 35:47-54
- <sup>13</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>14</sup> Gaspersic, R. *et al.* Identification and neuropeptide content of trigeminal neurons innervating the rat gingivomucosal tissue. *Archives of Oral Biology*, 2006, 51:703-9.
- <sup>15</sup> Jancso, G. *et al.* Selective degeneration by capsaicin of a subpopulation of primary sensory neurons in the adult rat. *Neurociencia Letters*, 1985, 59:209-14



- 
- <sup>16</sup> Vandevska-Radunovic, V. CGRP1 and NK1 receptors in postnatal, developing rat dental tissues. *European Journal of Oral Sciences*, 2003, 111(6):497-502
- <sup>17</sup> Zeichner-David, M. Regeneration of periodontal tissues: cementogenesis revisited. *Periodontology* 2000, 2006, 41:196-217.
- <sup>18</sup> Cho M-I, Garant PR Development and general structure of periodontum. *Periodontology* 2000, 2000, 24:9-27.
- <sup>19</sup> Shi, L. *et al.* Requirement of proper occlusal force for morphological maturation of neural components of periodontal Ruffini endings of the rat incisor. *Arch Oral Biol.*, 2006, 51(8):681-8
- <sup>20</sup> Gómez de Ferraris, M. E. y Campos Muñoz, A. *Histología y embriología bucodental*, 2ª ed., Panamericana, España, 2003, p. 354
- <sup>21</sup> Hernández, G.; Ferrus, J. y Bascones, A. Ferulizaciones diente-implante. *Ava. Periodon. Implantol.*, 2005, 17(3):165-174
- <sup>22</sup> Popova S. N. *et al.*  $\alpha 11\beta 1$  Integrin-Dependent regulation of Periodontal Ligament Function in the Erupting Mouse Incisor. *Molecular and cellular biology*, 2007, 27(12):4306-16
- <sup>23</sup> Yukako, A. *et al.* Altered distribution of Schwann cells in the periodontal ligament of the rat incisor following resection of the inferior alveolar nerve: an immunohistochemical study on S-100 proteins. *Brain Research*, 1999, 849:187-95.
- <sup>24</sup> Harada, F. *et al* The involvement of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the regeneration of periodontal Ruffini endings following transection of the inferior alveolar nerve. *Arch. Histol. Cytol.*, 2003, 66(2):183-94
- <sup>25</sup> Yukako A. *et al.* Effects of neonatal injury of the inferior alveolar nerve on the development and regeneration of periodontal nerve fibers in the rat incisor. *Brain Res.* 2000, 871(2):201-9
- <sup>26</sup> Lindhe, J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 4ª ed., Blackwell Munksgaard, Reino Unido, 2003
- <sup>27</sup> Gómez de Ferraris, M. E. y Campos Muñoz, A. *Histología y embriología bucodental*, 2ª ed., Panamericana, España, 2003, p. 355
- <sup>28</sup> Sonoyama W. *et al.*, Human Hertwig's Epithelial Root Sheath Cells Play Crucial Roles in Cementum Formation. *J Dent Res*, 2007, 86(7):594-9.
- <sup>29</sup> Gómez de Ferraris, M. E. y Campos Muñoz, A. *Histología y embriología bucodental*, 2ª ed., Panamericana, España, 2003, p. 354
- <sup>30</sup> Shiet *al.*, Efficacy of mesenchymal stem cells. *Orthod Craniofacial Res.* 2005(8):191-9
- <sup>31</sup> Luukko K. *et al.* Tissue Interactions in the Regulation of Axon Pathfinding During Tooth Morphogenesis. *Developmental Dynamics*, 2005, 234:482-8





- 
- <sup>32</sup> Fristad I. *et al.* Nerve fibres and cells immunoreactive to neurochemical markers in developing rat molars and supporting rat molars and supporting tissues. *Arch Oral Biol*, 1994, 39(8):633-46.
- <sup>33</sup> Ohishi M. *et al.* GDNF Expression in Terminal Schwann Cells Associated With the Periodontal Ruffini Endings of the Rat Incisors During Nerve Regeneration. *The Anatomical Record*, 2009, 292:1182–91.
- <sup>34</sup> Vandevska-Radunovic, V. CGRP1 and NK1 receptors in postnatal, developing rat dental tissues. *European Journal of Oral Sciences*, 2003, 111(6):497-502
- <sup>35</sup> Sonoyama W. *et al.*, Human Hertwig's Epithelial Root Sheath Cells Play Crucial Roles in Cementum Formation. *J Dent Res*, 2007, 86(7):594-9.
- <sup>36</sup> Gómez de Ferraris, M. E. y Campos Muñoz, A. *Histología y embriología bucodental*, 2ª ed., Panamericana, España, 2003, p. 357
- <sup>37</sup> Cerri P. S., Goncalves J. S y Sasso C. E. Area of Rests of Malassez in Young and Adult Rat Molars: Evidences in the Formation of Large Rests *The Anatomical Record*, 2009, 292:285–91.
- <sup>38</sup> Zeichner-David, M. Regeneration of periodontal tissues: cementogenesis revisited. *Periodontology* 2000, 2006, 41:196-217.
- <sup>39</sup> Nancy A. y Bosshardt D. D. Structure of periodontal tissues in health and disease, *Periodontology* 2000, 2006, 40:11-28
- <sup>40</sup> Walter, L. D. *Histología y embriología bucal*, McGraw-Hill, México, 1986, p. 134
- <sup>41</sup> Bradly T. A. *et al* Autoregulation of Periodontal Ligament Cell Phenotype and Functions by Transforming Growth Factor- $\beta$ 1, *J Dent Res.*, 1998, 77(10):1779-90
- <sup>42</sup> Abboud SL y Pinzani M. Peptide growth factors stimulate macrophage colony-stimulating. *Blood*, 199, 1 78(1): 103-9
- <sup>43</sup> Matsuzaka K. *et al.* Age-related Differences in Expression of Vascular Endothelial Growth Factor by Periodontal Ligament Cells *In Vitro*, *Bull Tokyo Dent Coll*, 2007, 48(3):143-6
- <sup>44</sup> Takashi Y., Koji F. *et al.* Epithelial Rests of Malassez Express Immunoreactivity of TrkA and Its Distribution Is Regulated by Sensory Nerve Innervation. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2000, 48(7):979–84.
- <sup>45</sup> Carranza FA, Newman M.G. *Periodontología clínica de Glickman*. 8ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1998.
- <sup>46</sup> Tsuruga E, *et al.* Tropoelastin expression by periodontal fibroblasts. *J Dent Res.*, 2002, 81(3):198-202.
- <sup>47</sup> Gómez FME, Campos MA. *Histología y embriología bucodental*. 2ª ed. Madrid: Médica Panamericana, 2002



- 
- <sup>48</sup> Carranza FA, Newman MG. Periodontología clínica de Glickman. 10ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2010.
- <sup>49</sup> Gómez FME, Campos MA. Histología y embriología bucodental. 2ª ed. Madrid: Médica Panamericana, 2002.
- <sup>50</sup> Lindhe, J. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 4ª ed., Blackwell Munksgaard, Reino Unido, 2003
- <sup>51</sup> Luukko K. et al. Tissue Interactions in the Regulation of Axon Pathfinding During Tooth Morphogenesis. *Developmental Dynamics*, 2005, 234:482–8
- <sup>52</sup> Lindhe, J. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 4ª ed., Blackwell Munksgaard, Reino Unido, 2003
- <sup>53</sup> Chaudhary P., Martenson M. E. y Baumann T.K. Vanilloid Receptor Expression and Capsaicin Excitation of Rat Dental Primary Afferent Neurons. *J Dent Res*, 2001, 80(6):1518-23.
- <sup>54</sup> Wakisaka S. Neuropeptides in the dental pulp: Distribution, Origins, and Correlation. *J Endod* 1990; 16:67-9
- <sup>55</sup> Rodríguez, R. C. y Vanin, A. D. Effects of orthodontic teeth movement on dental pulp: a review. *Revista Estomatología*, 2006; 14(1):27-9
- <sup>56</sup> O`Connor *et al.* The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol* 2004; 201: 167-180
- <sup>57</sup> Aita M. *et al.* The effect of neonatal capsaicin treatment on the CGRP-immunoreaction in the trigeminal subnucleus caudalis of mice. *Biomedical Research*, 2008, 29(1) 33-42.
- <sup>58</sup> Fristad, I. *et al.* Effect of inferior alveolar nerve axotomy on immune cells and nerve fibers in young rat molars. *Archives of Oral Biology*, 1995, 40(11):1053-62.
- <sup>59</sup> Gaspersic, R. *et al.* Identification and neuropeptide content of trigeminal neurons innervating the rat gingivomucosal tissue. *Archives of Oral Biology*, 2006, 51:703-9.
- <sup>60</sup> Awawdeh L. *et al.* A comparison of four extraction methods for substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide from human dental pulp tissue. *Archives of Oral Biology*, 1999; 44: 999-1004
- <sup>61</sup> Mayurama Y. Neurotrophin -4/5- depletion induces a delay in maturation of the periodontal Ruffini endings in mice. *Arch Histol Cytol*, 2005, 68(4):267-88
- <sup>62</sup> Schulze C., Spaethe A. y Halata Z. The sensory innervation of the periodontium of the third premolar in *Monodelphis domestica*. *Acta Ana (Basel)*, 1993; 146(1):42-5
- <sup>63</sup> Matsumoto M. *et al.* Characterization of three different sensory fibers by use of neonatal capsaicin treatment, spinal antagonism and a novel electrical stimulation-induced paw flexion test. *Molecular Pain* 2006, 2:16
- <sup>64</sup> Jabbar S. *et al.* Involvement of Neurotrophin-4/5 in Regeneration of the Periodontal Ruffini Endings at the Early Stage. *The Journal Of Comparative Neurology*, 2007, 501:400–12



- 
- <sup>65</sup> Jabbar S. *et al.* Involvement of Neurotrophin-4/5 in Regeneration of the Periodontal Ruffini Endings at the Early Stage. *The Journal Of Comparative Neurology*, 2007, 501:400–12
- <sup>66</sup> Shi L., *et al.* Requirement of proper occlusal force for morphological maturation of neural components of periodontal Ruffini endings of the rat incisor. *Archives of Oral Biology*, 2006, 51:681-8
- <sup>67</sup> Atsumi, Y. *et al.* Effects of different types of injury to the inferior alveolar nerve on the behavior of Schwann cells during the regeneration of periodontal nerve fibers of rat incisor. *Brain Research*, 1999, 849:187-95.
- <sup>68</sup> Jung H, Changes in the distribution of nerve fibres immunoreactive to calcitonin gene-related peptide according to growth and aging in rat molar periodontal ligament *Angle Orthod.*, 2010, 80(2):309-15
- <sup>69</sup> Wakisaka, S. *et al.* Neuropeptide Y-immunoreactive primary afferents in the dental pulp and periodontal ligament following nerve injury to the inferior alveolar nerve in the rat, *Brain Research*, 1996, 712:11-8
- <sup>70</sup> Ohta M., *et al.* Neuronal Activity Related to Spontaneous and Capsaicin-Induced Rhythmical Jaw Movements in the Rat. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1998, 119(2):645-51.
- <sup>71</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>72</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>73</sup> Kempainen, P. *et al.* Differences Between Tooth Stimulation and Capsaicin-induced Neurogenic Vasodilatation in Human Gingiva. *J. Dent Res.*, 2003, 82(4):303-7
- <sup>74</sup> Kwan C. L., *et al.* C-Fiber Depletion Alters Response Properties of Neurons in Trigeminal Nucleus Principalis. *J Neurophysiol.*, 1999, 81(2):435-46
- <sup>75</sup> Scardina GA, Carini F, Messina P. Vasodilatation of human gingiva and neurogenic inflammation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2005;32(4):279-85.
- <sup>76</sup> Tuncer L y Alaçam T. Substance P expression is elevated in inflamed human periradicular tissue. *J Endod* 2004; 30: 329-32
- <sup>77</sup> Black P. H. Stress and the inflammatory response: A review of neurogenic inflammation. *Brain Behav Immun* 2002; 16: 622-53
- <sup>78</sup> Jacobsen E. y Heyeraas K. J. Effect of capsaicin treatment or inferior alveolar nerve resection on dentine formation and calcitonin gene-related peptide- and substance P-immunoreactive nerve fibres in rat molar pulp, *Archives of Oral Biology*, 1997, 41:1121-31
- <sup>79</sup> Szallasi, A. Vanilloid receptor ligands: hopes and realities for the future. *Drugs Aging*, 2001, 18(8):561-73
- <sup>80</sup> Ioi H., *et al.* Capsaicin receptor expression in the rat temporomandibular joint. *Cell Tissue Res.*, 2006, 35:47-54



- 
- <sup>81</sup> Schumacher, M.A. TRPV1 splice variants: structure and function. *Front Biosci.*, 2010, 1(15):872-82
- <sup>82</sup> Ioi H. *et al.* Capsaicin receptor expression in the rat temporomandibular joint. *Cell Tissue Res*, 2006, 325: 47–54
- <sup>83</sup> Hiura, A. Neuroanatomical Effects of Capsaicin on the Primary Afferent Neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, 63(3):199-215
- <sup>84</sup> Zhang H. *et al.* Neurokinin-1 Receptor Enhances TRPV1 Activity in Primary Sensory Neurons via PKC $\epsilon$ : A Novel Pathway for Heat Hyperalgesia *J. Neurosci.*, October 31, 2007 • 27(44):12067–12077
- <sup>85</sup> Rigaud M. *et al.* Axotomy Depletes Intracellular Calcium Stores in Primary Sensory Neurons. *Anesthesiology*. 2009, 111(2): 381–92
- <sup>86</sup> Gamse, R. *et al.* Capsaicin applied to peripheral nerve inhibits axoplasmic transport of substance P and somatostatin *Brain Research*, 1982, 239:447-62.
- <sup>87</sup> Rigaud M. *et al.* Axotomy Depletes Intracellular Calcium Stores in Primary Sensory Neurons. *Anesthesiology*. 2009, 111(2): 381–92.
- <sup>88</sup> Aita M. Postnatal development of substance P-immunoreaction in the trigeminal caudalis of neonatally capsaicin-treated mice. *Arch Histol Cytol.*, 2005, 68(4):311-20
- <sup>89</sup> Fehrenbacher J. C. *et al.* Capsaicin-evoked iCGRP release from human dental pulp: a model system for the study of peripheral neuropeptide secretion in normal healthy tissue. *Pain*, 2009, 144(3): 253–61.
- <sup>90</sup> Jacobsen EB y Heyeraas KJ. Effect of capsaicin treatment or inferior alveolar nerve resection on dentine formation and calcitonin gene-related peptide- and substance P-immunoreactive nerve fibres in rat molar pulp. *Arch Oral Biol.*, 1996, 41(12):1121-31.
- <sup>91</sup> Fehrenbacher, J. C. *et al.* Capsaicin-evoked iCGRP release from human dental pulp: a model system for the study of peripheral neuropeptide secretion in normal healthy tissue. *Pain*, 2009, 144(3):253-61
- <sup>92</sup> Gómez de Ferraris, M. E. y Campos Muñoz, A. *Histología y embriología bucodental*, 2ª ed., Panamericana, España, 2003, p. 353
- <sup>93</sup> Chung K., Klein C.M. y Coggeshall R.E.. The receptive part of the primary afferent axon is most vulnerable to systemic capsaicin in adult rats. *Brain Research*, 1990, 511:222-6
- <sup>94</sup> Trujillo, A. y Domínguez R. La denervación sensorial con capsaicina y sus efectos sobre las funciones del ovario en la rata adulta. *Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*, 2001, México
- <sup>95</sup> Aita, M. *et al.* The effect of neonatal capsaicin treatment on the the CGRP-immunoreaction in the trigeminal subnucleus caudalis of mice. *Biomedical Research*, 2008, 29(1):33-42
- <sup>96</sup> Ikeura, T. *et al.* Effects of sensory denervation by neonatal capsaicin administration on experimental pancreatitis induced by dibutyltin dichloride. *Med Mol Morphol.*, 2007, 40(3):141-9



- 
- <sup>97</sup> Montuenga, L., Esteban, F. y Calvo, A. Técnicas en Histología y Biología Celular, Elsevier, México, 2009, p. 73
- <sup>98</sup> Nance, D. M. *et al.* Neuroendocrine and behavioral effects of intrathecal capsaicin in adult female rats. *Brain Res Bull*, 1994, 18(1):109-14
- <sup>99</sup> Ogilvy C. S. y Borges L. F. Changes in corneal innervation during postnatal development in normal rats and in rats treated at birth with capsaicin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 1990; 31(9):1810-5.
- <sup>100</sup> Russell LC y Burchiel KJ. Neurophysiological effects of capsaicin. *Brain Res.* 1984, 320(2-3):165-76.
- <sup>101</sup> Aita M. Postnatal development of substance P-immunoreaction in the trigeminal caudalis of neonatally capsaicin-treated mice. *Arch Histol Cytol*, 2005, 68(4):311-20
- <sup>102</sup> Vandevska-Radunovic, V. CGRP1 and NK1 receptors in postnatal, developing rat dental tissues. *European Journal of Oral Sciences*, 2003, 111(6):497-502
- <sup>103</sup> Atsumi, Y. *et al.* Effects of different types of injury to the inferior alveolar nerve on the behavior of Schwann cells during the regeneration of periodontal nerve fibres of rat incisor. *Brain Research*, 1999, 849:187-95.
- <sup>104</sup> Guzmán FNL. Efectos de la denervación simpática y sensorial sobre los componentes histológicos del diente. La rata como modelo de estudio (Tesis Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. 2005.
- <sup>105</sup> Luna C. C. L. Efectos de la denervación sensorial con capsaicina en el hueso alveolar mandibular: un estudio histomorfométrico en ratas prepúber. (Tesis Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. 2008.
- <sup>106</sup> Guzmán FNL. Efectos de la denervación simpática y sensorial sobre los componentes histológicos del diente. La rata como modelo de estudio (Tesis Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. 2005.
- <sup>107</sup> Luna C. C. L. Efectos de la denervación sensorial con capsaicina en el hueso alveolar mandibular: un estudio histomorfométrico en ratas prepúber. (Tesis Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. 2008.
- <sup>108</sup> Ko F. *et al* Toxic effects of capsaicin on keratinocytes and fibroblasts. *J of Burn Care and Rehabilitation*, 1998; 19:409-13.
- <sup>109</sup> Ko F, Díaz M, Smith P, Emerson E, Kim Y, Krizek T, Robson M. Toxic effects of capsaicin on keratinocytes and fibroblasts. *J of Burn Care and Rehabilitation*. 1998;19:409-13.
- <sup>110</sup> Ko F. *et al* Toxic effects of capsaicin on keratinocytes and fibroblasts. *J of Burn Care and Rehabilitation*, 1998; 19:409-13.
- <sup>111</sup> Haug S. R. *et al.* Sympathectomy causes increased root resorption after orthodontic tooth movement in rats: immunohistochemical study. *Cell Tissue Res*, 2003, 313:167-75
- <sup>112</sup> Luukko K. *et al.* Tissue Interactions in the Regulation of Axon Pathfinding During Tooth Morphogenesis. *Developmental Dynamics*, 2005, 234:482-8



---

<sup>113</sup>Hill E., Turner R. y Elde R. Effects of neonatal sympathectomy and capsaicin treatment on bone remodelling in rats. *Neuroscience*, 1991, 44(3):747-55

<sup>114</sup>Haug S.R. y Heyeraas K.J. Modulation of Dental inflammation by the Sympathetic Nervous System. *J Dent Res*, 2006, 85(6):488-95.