



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
SUPERIORES UNIDAD LEÓN

TEMA:

CARACTERIZACIÓN DE *HELICOBACTER
PYLORI* EN PULPA DENTAL

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

MARCO ANTONIO PRIETO BERMÚDEZ



TUTOR:

DRA. PAOLA CAMPOS IBARRA

ASESOR:

DR. FERNANDO TENORIO ROCHA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

DEDICATORIAS	5
AGRADECIMIENTOS	6
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
CAPÍTULO 1	9
MARCO TEÓRICO	10
1. EMBRIOLOGÍA PULPAR	10
1.1 <i>Estadio de brote</i>	11
1.2 <i>Estadio de casquete</i>	12
1.3 <i>Estadio de campana</i>	14
1.4 <i>Papila dentaria</i>	15
1.5 <i>Saco dentario</i>	16
1.6 <i>Estadio terminal</i>	16
2. HISTOLOGÍA PULPAR	17
2.1 <i>Generalidades de la pulpa dental</i>	17
2.2 <i>Zonas morfológicas de la pulpa</i>	18
2.3 <i>Células pulpares</i>	19
2.4 <i>Fibras de la pulpa dental</i>	22
2.5 <i>Sustancia fundamental</i>	22
3. MICROBIOLOGÍA	24
3.1 <i>Pulpitis Irreversible (PI)</i>	24
3.2 <i>Caries</i>	26
3.2.1 <i>Factores relacionados con el huésped</i>	27
3.2.2 <i>Factores relacionados con la microflora</i>	28
3.2.3 <i>Factores relacionados con el sustrato cariogénico</i>	30
3.2.4 <i>Proceso carioso con extensión al tejido pulpar y perirradicular</i>	30
4. ENFERMEDADES PULPARES Y PERIAPICALES	31
4.1 <i>Clasificación de las enfermedades pulpares</i>	31
4.2 <i>Clasificación de las enfermedades periapicales</i>	33
5. HELICOBACTER PYLORI	36
6. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	38
6.1 <i>Histología</i>	38
6.1.1 <i>Tinción con Hematoxilina-Eosina (H&E)</i>	38
6.1.2 <i>Inmunohistoquímica (IHQ)</i>	39
6.2 <i>Cultivo</i>	39
6.3 <i>PCR</i>	39
CAPÍTULO 2	40
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	41
JUSTIFICACIÓN	41
OBJETIVOS	42
OBJETIVO GENERAL	42

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
CRITERIOS	42
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	42
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	42
CRITERIOS DE CONTROL.....	42
HIPÓTESIS.....	43
HIPÓTESIS NULA (H ₀).....	43
HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H _A).....	43
CAPÍTULO 3.....	44
METODOLOGÍA.....	45
OBTENCIÓN DE LA MUESTRA	45
PROCESADO DE LAS MUESTRAS CON TINCIÓN DE H&E	46
PROCESADO INMUNOHISTOQUÍMICA CONTRA <i>H. PYLORI</i>	47
CAPÍTULO 4.....	50
RESULTADOS	51
TABLAS DE RECOLECCIÓN TOTAL DE IMÁGENES HISTOLÓGICAS.....	53
DISCUSIÓN	84
CONCLUSIONES	89
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
ANEXOS.....	95

DEDICATORIAS

A mis padres, principalmente, que aún estando a kilómetros de distancia, siempre tuve su apoyo incondicional en todos los aspectos.

A mis hermanos, quienes estuvieron para animarme, aconsejarme y motivarme en los momentos difíciles y gratificantes.

A cada uno de mis profesores que me acompañaron en mi formación profesional durante los 4 años, especialmente los del área de profundización.

A mi tutora, Dra. Paola Campos, y al asesor Dr. Fernando Tenorio, quienes me brindaron apoyo, orientación y motivación a lo largo de esta investigación.

A mis amigos, Leonardo, Paola, Bijou, Hannia, por su maravillosa compañía.

A mi gran amiga Monse, por siempre demostrarme su apoyo, amistad y motivación en todo lo que se me presentara.

A mi mejor amiga Herandy, por su apoyo constante, amistad y por hacer mis días más amenos.

A André, por motivarme siempre y recordarme lo capaz que puedo ser para alcanzar cualquier meta, y por su apoyo a lo largo de estos años.

A todas esas personas a las que brindé mi atención odontológica, por estar siempre presentes en sus citas y por confiar en mí, dedicándome su tiempo y paciencia.

A mí.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente, agradezco a la vida por permitirme estar aquí, demostrando que, a pesar de las dificultades que enfrenté a lo largo de mi vida, me di la oportunidad de seguir luchando y alcanzar las metas que una vez imaginé tan lejanas, especialmente la de ser odontólogo.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a mi madre, quien siempre estuvo a mi lado y seguirá siendo mi admiración por ser una mujer tan valiente, fuerte y trabajadora. A mi padre, por enseñarme que nada es imposible en la vida, y por demostrarme su apoyo incondicional. Siempre estaré orgulloso de la personas que son hoy en día. Todo esto es gracias a ustedes.

A mi hermano Juan Manuel, quien estuvo conmigo en todo momento, le agradezco por nunca dejarme solo y por demostrarme su apoyo incondicional. A mi hermana Alondra, por siempre demostrarme su cariño y apoyo. A mis hermanos José, Alejandra y Juana, a pesar de la distancia y de la vida, les agradezco por creer en mí en algún momento de esta etapa. Los quiero mucho, aunque nunca fueron mis pacientes.

A mis grandes amigos, quienes siempre me apoyaron de alguna manera, fueron muy buenas personas conmigo. Gracias a mi pareja de clínica durante 3 años, Leo, de quien aprendí mucho. A Bijou y Pao, siempre fueron excepcionales amigas y personas maravillosas.

A mis compañeros de equipo en Endo-Perio, Herandy y Monse, las chicas más inteligentes e increíbles que pude haber conocido. Siempre recordaré todo lo que hicieron por mí, y solo nosotros sabemos los momentos buenos y malos que compartimos el último año. Les agradezco por siempre quedarse conmigo, especialmente a Herandy, por seguir estando y apoyándome cada día que pasa.

A los doctores y compañeros del área de Endo-Perio, aprendí mucho de cada uno de ustedes. Principalmente, agradezco a la Dra. Denisse Orihuela, quien siempre me aconsejó, apoyó, y fue uno de los pilares para que me interesara en la endodoncia. A la Dra. Paola Campos, por ser mi tutora y también una excelente doctora, de quien aprendí mucho. Siempre la recordaré por su sencillez, empatía y ética en todo lo que hace. A mi asesor, el Dr. Tenorio, gracias por su paciencia y gran apoyo en la realización de esta investigación.

RESUMEN

Introducción: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria microaerófila que se encuentra en cerca de la mitad de la población mundial y es la responsable de diversas patologías gastrointestinales. Estudios recientes han identificado la presencia de esta bacteria en la cavidad oral, tanto en la biopelícula como en la saliva, sugiriendo su posible papel como reservorio. Sin embargo, pocos estudios se han centrado en la pulpa dental y, específicamente, en la pulpitis irreversible.

Objetivos: Identificar la presencia y distribución de *H. pylori* en la pulpitis irreversible utilizando técnicas de inmunohistoquímica. Además, se pretende establecer la existencia de posibles relaciones entre esta bacteria en el tejido pulpar y las enfermedades gastrointestinales.

Metodología: Se examinaron 109 muestras de pulpa dental en 18 laminillas. Las muestras se sometieron a un estudio histológico, primero teñidas con H&E y luego con tinción de inmunohistoquímica contra *H. pylori* utilizando un anticuerpo primario Clona: EP279, R Mab, conejo monoclonal de la marca BIOCARE MEDICAL.

Resultados: De las 109 muestras analizadas, se detectaron 92 pulpas positivas, lo que equivale al 84.40% del total. Se identificaron 14 pulpas negativas (12.84%) y 3 pulpas no valorables (2.75%). Estos resultados indican la positividad de *H. pylori* en la mayoría de las muestras estudiadas.

Conclusiones: Es de gran interés continuar ampliando la investigación para identificar esta bacteria a niveles más específicos, lo que permitiría aumentar el conocimiento sobre el tipo y las características de *H. pylori* presente en la pulpa dental, así como su función y el tipo de cepa presente. Esto nos ayudaría a establecer relaciones más precisas con las enfermedades gastrointestinales.

Palabras clave: *Pulpitis irreversible, caries, inmunohistoquímica, bacteria, microbiología oral, estómago.*

INTRODUCCIÓN

Existe muy poca investigación en el ámbito endodóncico respecto a nuevas bacterias que pueden estar presentes en los procesos inflamatorios pulpares, como en la pulpitis irreversible. Podemos establecer que esta última es una de las principales enfermedades pulpares, por las que más se recurre a la cita odontológica. Asimismo, existen otras alteraciones que comúnmente no están relacionadas con la cavidad oral, pero se ha encontrado que muchos procesos se correlacionan, lo que genera un problema bidireccional.

Se requiere una amplia investigación para determinar en la actualidad la presencia de bacterias de interés, como el *H. pylori*, el cual se ha demostrado que puede establecerse en diferentes partes de la cavidad oral; este microorganismo cumple con la característica de ser una bacteria propia del estómago y, por ende, puede generar enfermedades gastrointestinales. Por tal motivo, se busca determinar la presencia de esta bacteria de interés en el tejido pulpar, dado que hay muy poca información al respecto. Para ello, se emplearán métodos diagnósticos como los exámenes histológicos.

En el estudio que se presenta, se analizaron tejidos incluidos en formalina correspondientes a 109 pulpas dentales, las cuales por medio de la técnica de inmunohistoquímica identifica la presencia de *H. pylori* en este tejido y de esta manera poder proponer estudios que se correlacionen con alteraciones sistémicas.

El objetivo de esta investigación es evaluar la presencia y distribución del *H. pylori* en la pulpitis irreversible, utilizando técnica de inmunohistoquímica, es decir, se trata de un estudio morfológico.

CAPÍTULO 1.

MARCO TEÓRICO

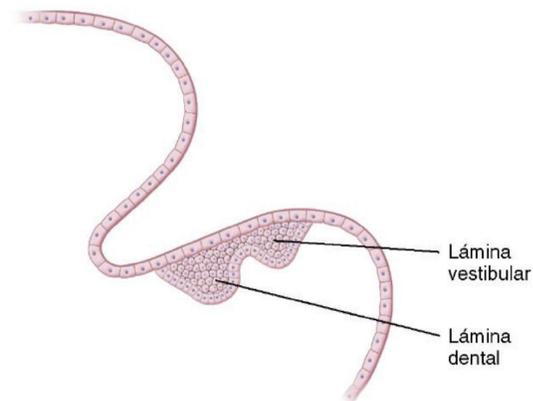
1. Embriología pulpar

Durante la 6ta semana de vida embrionaria, inicia la odontogénesis, la cual implica una serie de transformaciones químicas, morfológicas y funcionales. En el transcurso de la tercera y cuarta semana, en la etapa del disco bilaminar, se observa un engrosamiento en el ectodermo conocido como placa neural, donde hay una invaginación, formando el surco neural. Las extremidades de este surco se elevan y se pliegan hasta unirse, dando origen al tubo neural (1). Estas células componen el ectomesénquima, del cual, según Hargreaves et al. (2), la pulpa dental proviene de la proliferación de estas células.

El primer indicio morfológico del desarrollo dental es la aparición de la banda epitelial primaria, una formación en forma de U de epitelio engrosado que recubre la cavidad bucal primitiva y se manifiesta en la quinta semana de gestación embrionaria (3). Simultáneamente en el tejido ectomesenquimal, ocurre una agregación celular, dando origen a 10 láminas que penetran y crean las láminas dentales; que darán origen a los 10 dientes primarios en cada arcada. En este momento, se inicia un proceso de inducción epitelio-mesénquima, permitiendo la formación de estructuras derivadas del ectodermo (esmalte) y ectomesénquima (pulpa, dentina, hueso, ligamento periodontal y cemento) (1).

La banda epitelial primaria, en primer lugar, da origen a la lámina dental dentro del arco dental y, poco después, a la lámina vestibular en el exterior del mismo, las cuales se desarrollan en el ectomesénquima subyacente (Figura 1). La lámina dental es el sitio donde se formarán los futuros gérmenes dentales, mientras que la lámina vestibular eventualmente se desintegra para dar lugar al futuro vestíbulo o surco entre la mejilla y el área de formación dental. Tanto la banda epitelial primaria como la lámina dental actúan como base para el desarrollo posterior de múltiples gérmenes dentales individuales (3).

Figura 1. Lámina vestibular y dental a partir del ectodermo oral (2).



Los gérmenes dentales individuales se someten a morfogénesis a través de las etapas de yema o brote, casquete y campana (Figura 2). Estas etapas se denominan de acuerdo con la forma del germen del diente visto desde secciones frontales (3).

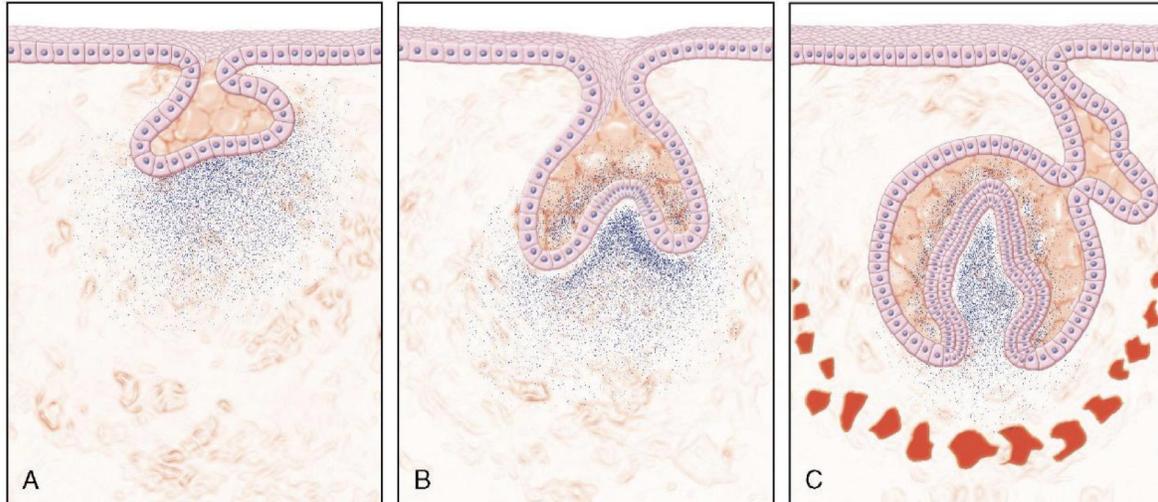


Figura 2. Fases del brote (A); yema o brote, (B); Casquete, (C); Campana (2).

1.1 Estadío de brote

Durante el estadio de yema, se observa la emisión del epitelio dental desde la lámina dental hacia el ectomesénquima subyacente, mientras las células ectomesenquimales se agrupan alrededor de la yema epitelial (3) (Figura 3). La organización de los brotes es simple: en la superficie hay células cúbicas definidas, en el núcleo células con forma poligonal y espacios intercelulares reducidos. Las células ectomesenquimales se hallan agrupadas densamente bajo el revestimiento epitelial y alrededor del brote (4) (Figura 4).

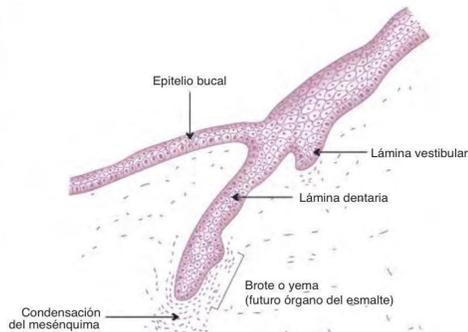


Figura 3. Formación de yema (2).

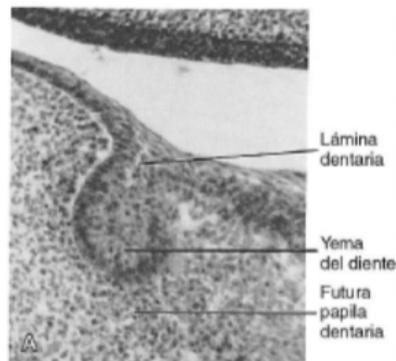


Figura 4. Histología de yema (4).

1.2 Estadío de casquete

La etapa del casquete tiene lugar durante la novena semana y se caracteriza por la presencia de una formación epitelial del germen dental que se asemeja a un casquete que reposa sobre una agrupación esférica de ectomesénquima. Este componente epitelial se conoce como órgano del esmalte, el cual se diferenciará posteriormente en ameloblastos. La concavidad que rodea esta agrupación esférica de ectomesénquima se llama papila dental, la cual se convertirá en la futura pulpa dentaria, dando origen al complejo dentinopulpar. Además, otro conjunto de células ectomesenquimatosas, conocido como folículo o saco dental, envuelve al órgano del esmalte (OE) y a la papila dental (3,4) (Figura 5 y 6).

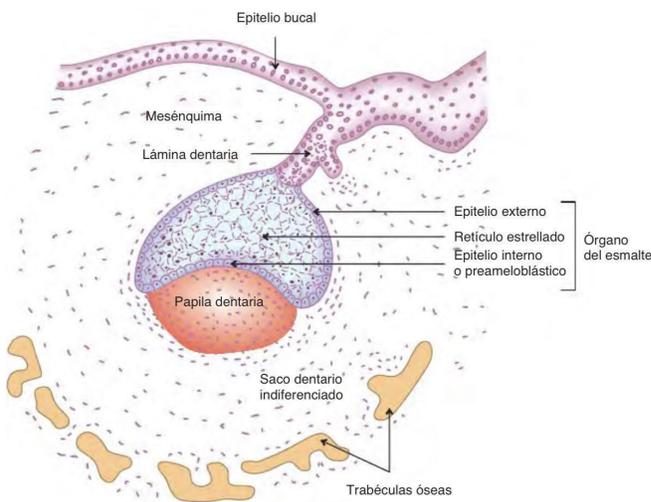


Figura 5. Estadío de casquete inicial (4).

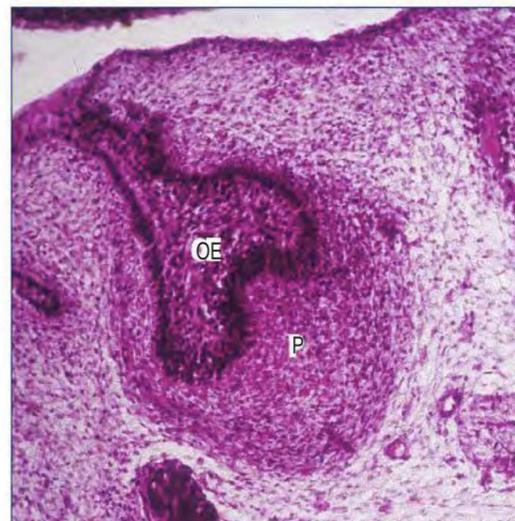


Figura 6. Histología del estadio de casquete. OE: órgano del esmalte; P: papila dentaria (4).

Histológicamente, se distinguen las siguientes estructuras en el OE:

- 1) **Epitelio dental externo:** constituido por una capa de células cúbicas, organizadas en la parte convexa, unidas a la lámina dentaria mediante una porción denominada pedúnculo epitelial (4).
- 2) **Epitelio dental interno:** localizado en la porción cóncava, compuesto principalmente por células cilíndricas bajas, las cuales incrementarán su altura; para luego, diferenciarse en ameloblastos en el estadio de campana (4).
- 3) **Retículo estrellado:** característico por presentar células en forma de estrella, unidas por desmosomas, lo que resulta en la formación de una red continua celular donde sus extensiones se entrelazan para formar un retículo (4).

El tejido conectivo mesenquimal ubicado en la concavidad se condensa bajo la influencia del epitelio proliferativo, originando la papila dentaria. Esta prominencia se halla apartada del epitelio interno del OE por una membrana basal. Además, el tejido de mesénquima que circunda prácticamente por completo el casquete, se condensa y se torna fibrilar, originando así el folículo dental. En conjunto el OE, la papila y el folículo dental, conforman el germen dental (4). Durante esta etapa, los vasos sanguíneos rodean el germen dental en el folículo dental y penetran en la papila dentaria. Las fibras nerviosas rodean el germen dental en el folículo dental, pero no en la papila dentaria hasta la fase de campana, cuando comienza la dentinogénesis (3).

En el epitelio interno se desarrolla un cúmulo de células, conocidas como nudo primario del esmalte. Aunque es una estructura transitoria, se considera el centro regulador de la morfología dental debido a su capacidad para producir factores de crecimiento y señalización. Una vez que completa su función secretora y reguladora, estas células desaparecen mediante apoptosis (4) (Figura 7 y 8).

Por lo tanto, en el estadio de casquete podemos encontrar las siguientes estructuras, las cuales darán origen a todos los tejidos dentarios (4).

- 1) Órgano del esmalte: origen ectodérmico.
- 2) Papila dentaria: origen ectomesénquima.
- 3) Folículo dentario: origen ectomesénquima.

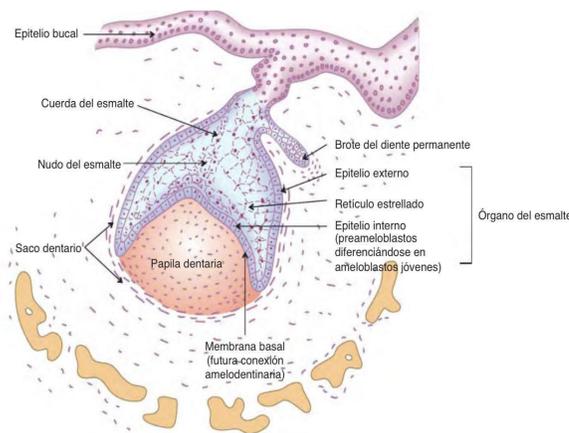


Figura 7. Etapa terminal de casquete (4).

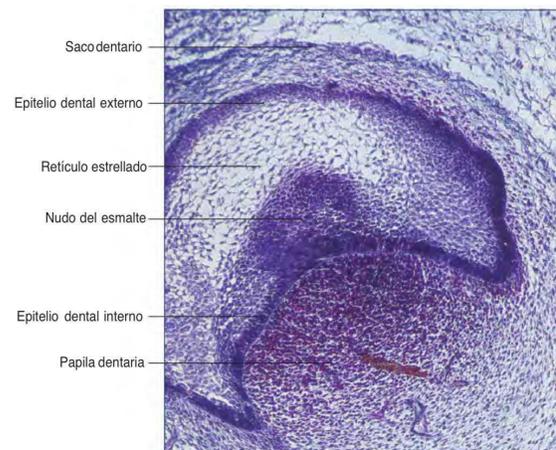


Figura 8. Histología etapa terminal de casquete (4).

1.3 Estadio de campana

Este proceso tiene lugar entre las semanas 14-18 (4). Se caracteriza por el crecimiento del órgano del esmalte en forma de campana, a medida que su superficie inferior se profundiza y envuelve la papila dental, mientras que el saco dental continúa encapsulando tanto el órgano del esmalte como la papila dental. Durante este estadio, los procesos de morfodiferenciación e histodiferenciación se hacen más evidentes (2,3).

El órgano del esmalte en este periodo embrionario (Figura 9 y 10); está constituido por:

1) **El epitelio dental externo:** exhibe la presencia de células aplanadas y pliegues debido a la invaginación o brotes vasculares, los cuales garantizan la nutrición del órgano del esmalte (2, 4).

2) **El retículo estrellado:** compuesto por células de aspecto estrellado, con un notable volumen debido al aumento del líquido intercelular. Hay una interrupción en los nutrientes, esta reducción se intensifica justo cuando las células del epitelio interno comienzan a segregar el esmalte. Esto conduce al adelgazamiento del retículo estrellado, lo que facilita un mayor flujo de nutrientes (2, 4).

3) **El estrato intermedio:** se sitúa en medio del epitelio interno y retículo estrellado, compuesto por células aplanadas. Prominente en áreas que pertenecerán a las cúspides. Las células de este estrato muestran una marcada actividad enzimática de fosfatasa alcalina, lo que sugiere su participación indirecta en la mineralización del esmalte (2, 4).

4) **El epitelio dental interno:** se caracteriza por la presencia de preameloblastos, que se diferenciarán en ameloblastos. Durante esta etapa, se establece la estructura coronaria, debido a inducciones características del ectomesénquima. A medida que avanza este estadio, el epitelio interno desencadena un efecto inductor en la papila. Células ectomesenquimales no especializadas se convierten en odontoblastos, iniciando la síntesis dentinaria en la parte superior, prolongándose gradualmente (2, 4).

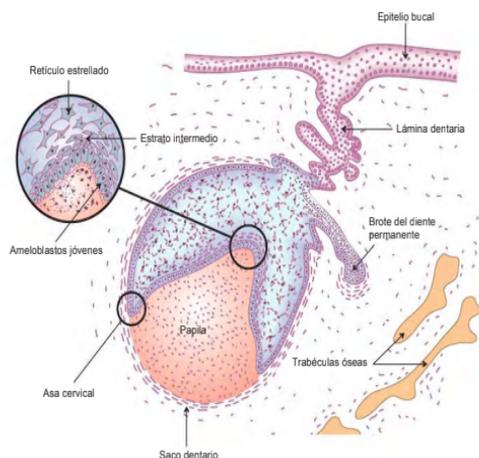


Figura 9. Estadio de campana (4).

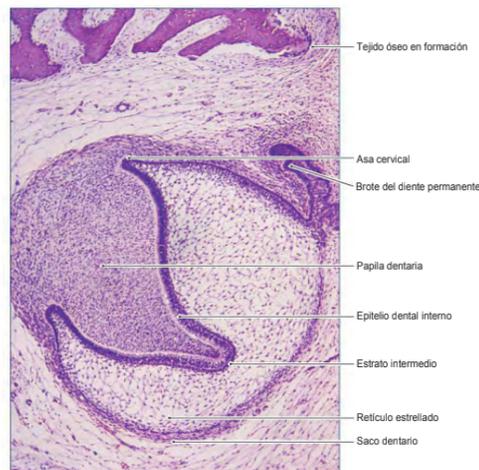


Figura 10. Histología etapa de campana (4).

En la etapa avanzada de campana, los ameloblastos adquieren gradualmente características secretoras mediante citodiferenciación; sin embargo, están sin actividad celular hasta que los odontoblastos desarrollen la primera capa de dentinaria. En este punto, la nutrición de los ameloblastos proviene del estrato intermedio y no de la papila (4, 5).

1.4 Papila dentaria

Una vez formada la dentina, la parte del centro de la papila se convierte en pulpa. Esta región céntrica se caracteriza por presentar fibroblastos jóvenes que contienen abundantes glucosaminoglicanos, principalmente ácido hialurónico y condroitín-sulfato. Además, se encuentran fibras, como: las oxitalánicas y las precolágenas (4).

En cuanto a la inervación, está se genera muy tempranamente. Hay ligeras extensiones nerviosas provenientes del trigémino, las cuales pueden avanzar en los distintos estadios, pero se hacen presentes una vez que los odontoblastos secreten dentina. Distintos factores pueden estar involucrados en la inervación sensorial de la papila y desarrollo de axones, tales como: el NGF, BDNF, GDNF. En un inicio la inervación es principalmente sensorial, puesto que, se ha encontrado la ausencia de fibras nerviosas autónomas en los primeros estadios (3).

Acerca de la vascularización, grupos de vasos sanguíneos ingresan a la papila en la fase de casquete. Mientras que el desarrollo sigue su curso, los vasos se localizan principalmente en la parte donde se generará la formación radicular (2).

1.5 Saco dentario

En el estadio de campana, se evidencia con mayor claridad la estructura del diente en desarrollo. Se compone de dos capas principales: una interna, denominada célula vascular externa, y una capa superficial que contiene una gran cantidad de fibras de colágeno. Estas fibras de colágeno y precolágeno se organizan circularmente alrededor del diente en formación, lo que le confiere el nombre de saco dental. Durante esta etapa, el colágeno presente es principalmente del tipo I y III. Las células mesenquimales presentes en esta zona darán origen a los componentes del periodonto de inserción (4).

Tanto la inervación como la irrigación sanguínea se dividen en dos tipos, una dirigida hacia el saco dental y la otra hacia la papila, distribuyéndose a través del folículo. También, en el borde más profundo de la lámina dentaria se experimenta una proliferación, convirtiéndose en un extremo libre que se ubica detrás del OE, desarrollando así el esbozo del diente permanente. En cuanto a los restos de la lámina dentaria, ahora se llegan a denominar como perlas de Serres (4).

1.6 Estadio terminal

Es característico identificar en esta fase la presencia de matriz de esmalte en dentina previamente secretada, esto en las áreas que darán lugar a bordes y cúspides. La interconexión de esmalte y dentina, puede presentar distintas texturas, y se nombrará como conexión amelodentinaria. Formada la corona, se produce la formación y desarrollo de la raíz (4) (Figura 11 y 12).

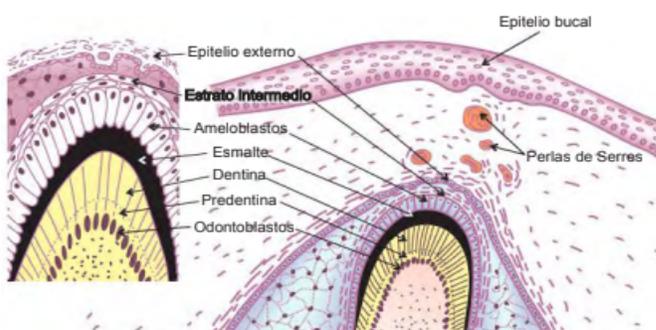


Figura 11. Estadio terminal (4).

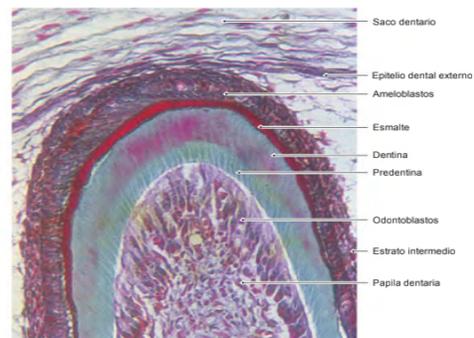


Figura 12. Histología estadio terminal (4).

1.7 Desarrollo y formación radicular

La vaina epitelial de Hertwig actúa como inductora y formadora de esta estructura. La raíz se da a partir de una unión entre epitelio interno y externo del OE. Generando una extensión hacia el interior de la papila dental, estimulando la diferenciación de los odontoblastos radiculares. Depositándose la primera capa de dentina, se originan los restos de Malassez, producto de la fragmentación de la vaina epitelial (4).

Además, se producen ciertas interrupciones cuando la vaina de Hertwig se está desarrollando, lo que dará lugar a conductos accesorios y laterales. En casos donde se formarán dos raíces, la vaina producirá más de una prolongación que se dirigirán hacia el eje longitudinal del diente, al fusionarse crearán el piso pulpar. Cada una de estas prolongaciones prolifera individualmente para formar su propia raíz. Finalizado el desarrollo, la vaina se encorva hacia el interior, generando un diafragma, el cual va a determinar la longitud de la raíz y delimitación del foramen apical (1, 4).

2. Histología Pulpar

2.1 Generalidades de la pulpa dental

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo, especializado y de origen mesenquimatoso, contiene aproximadamente 75 % de agua y 25 % de materia orgánica (2,4). Este tejido alberga diversas células especializadas, como los odontoblastos, ubicados en la periferia del tejido. La relación entre la pulpa y la dentina se denomina complejo dentinopulpar, y se considera una unidad funcional a pesar de tener elementos histológicos distintos. Además, la pulpa contiene elementos tisulares como axones, tejido vascular, sustancia fundamental, fluido intersticial, células inmunocompetentes y otras estructuras (2,6). Es importante señalar que la pulpa dental está estructurada en cuatro zonas morfológicas, cada una con características y composición distintas (2). Así mismo, la pulpa se divide en una porción coronal y apical, que muestran variaciones en la proporción celular, la forma anatómica y el tamaño. También desempeña diversas funciones, como la inducción, la formación, la nutrición, la defensa y la inervación (4).

Con el tiempo, la pulpa dental experimenta cambios fisiológicos y patológicos debido a la edad y diversos factores, que pueden influir en su función y vitalidad (4,5).

2.2 Zonas morfológicas de la pulpa

En el tejido pulpar diferenciado se distinguen 4 áreas (Figura 13) :

- 1) **Zona o capa odontoblástica:** situada directamente debajo de la predentina, permitiendo que las proyecciones odontoblásticas lleguen a la dentina. Compuesta por los cuerpos celulares de los odontoblastos, capilares sanguíneos y fibras nerviosas. Coronalmente los odontoblastos tienen una forma cilíndrica alta, adoptando una apariencia de empalizada. Presenta una mayor densidad celular por unidad de área, y el espacio intercelular oscila entre 30-40 nm de ancho. En la parte media, los odontoblastos son más cúbicos y más apical se vuelven más aplanados. Entre los odontoblastos vecinos, se encuentran desmosomas, uniones celulares especializadas que permiten la transmisión rápida de estímulos eléctricos y el paso de líquidos, proteínas plasmáticas, capilares y fibras nerviosas (1,2).
- 2) **Zona pobre en células o capa basal de Weil:** localizada después de la capa de odontoblastos, se caracteriza por tener una escasez de células. En esta región se encuentran capilares sanguíneos, fibras nerviosas amielínicas y delgados procesos citoplasmáticos. En algunas ocasiones, puede no ser claramente visible en pulpas jóvenes, en proceso de formación de dentina o en pulpas viejas con menor cantidad de células y dentina de reparación. También se puede distinguir el plexo nervioso de Raschkow (1,2).
- 3) **Zona rica en células:** zona subodontoblástica, destaca por contener una elevada proporción de células, como lo son los fibroblastos. Contiene múltiples macrófagos, células dendríticas y células madre. Suele ser más prominente en la porción coronaria (2).
- 4) **Zona central de la pulpa o pulpa central:** parte central de la pulpa, constituida por vasos sanguíneos, fibras nerviosas de mayor diámetro, sustancia fundamental y fibras. Contiene también, células como lo son los fibroblastos, células madre, macrófagos, etc (1).

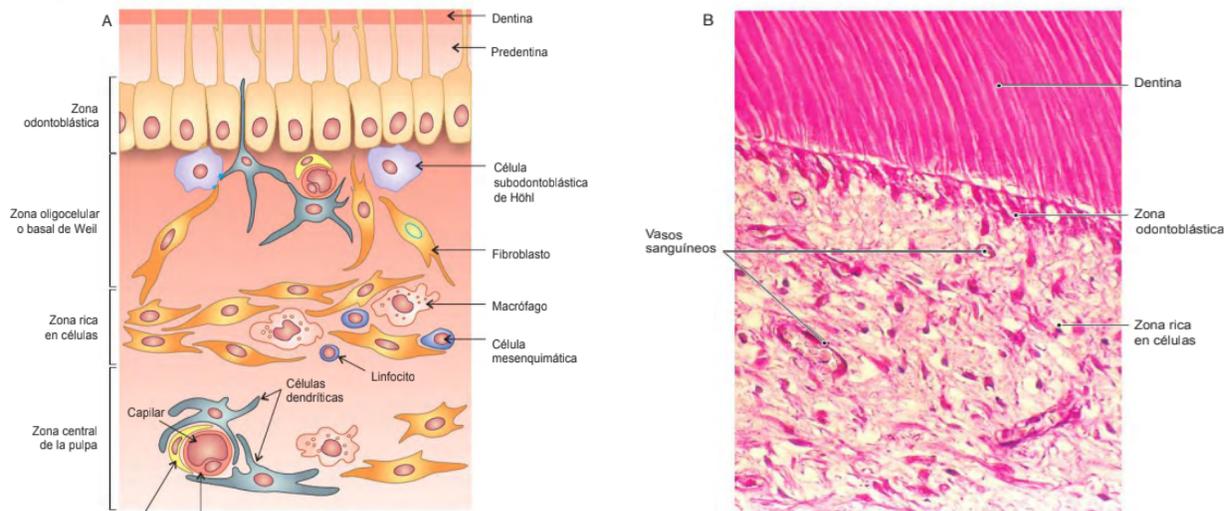


Figura 13. Zonas morfológicas de la pulpa A. Esquema; B. Histología-microfotografía (4).

2.3 Células pulpares

Odontoblastos

Las células más característicamente asociadas al complejo dentinopulpar son los odontoblastos (2). Su función principal es la formación de dentina y se prolongan en los túbulos dentinarios, están localizados en forma de empalizada sobre la periferia del tejido pulpar (6).

Los cuerpos celulares de los odontoblastos son altos y columnares (Figura 14). En la región coronaria, la cifra aproximada de odontoblastos es de 45,000 por mm cuadrado. Estas células presentan un núcleo grande que puede contener hasta 4 nucleolos, un desarrollado aparato de Golgi supranuclear, numerosas mitocondrias distribuidas uniformemente y abundante RER. Las prolongaciones de esta célula oscilan entre 0.2 - 0.7 mm; pueden alcanzar aproximadamente el espesor dentinario, contiene además numerosos microtúbulos y microfilamentos (2).

Los odontoblastos se asocian unos con otros a través de sistemas de unión, como: desmosomas, interdigitaciones y uniones gap (4). Sintetizan colágeno tipo I y proteoglicanos. Secretan sialoproteína y fosfatasa alcalina, la cual participa en la mineralización extracelular, entre otros elementos (2). Además de estas funciones, desempeñan un papel defensivo mediante receptores de reconocimiento de moléculas asociadas a patógenos y la secreción de sustancias defensivas. También tienen la capacidad para atraer células inmunitarias y actúan como receptores de estímulos térmicos y biomecánicos. El odontoblasto maduro es una célula diferenciada, la cual no puede dividirse, estos se originan mediante células madre pulpares mientras ocurren procesos de reparación (4).

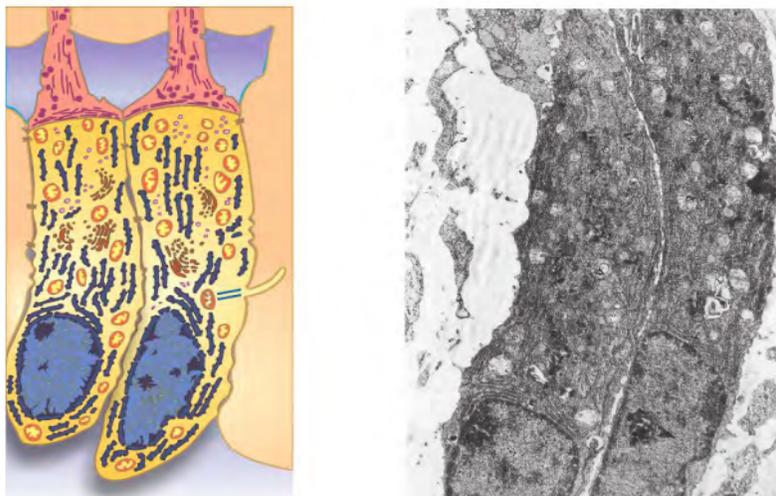


Figura 14. Representación gráfica y microscópica de odontoblasto maduro (4).

Fibroblasto

Esta célula se encuentra principalmente en la zona rica en células, es considerada la más abundante en pulpa. Presentan un aspecto estrellado y alargado, su forma se caracteriza de acuerdo al tipo de matriz extracelular en la que se encuentren. Conforme maduran, aumenta su aparato de Golgi, el RER prolifera, adoptan el aspecto característico de células secretoras y se forman vesículas (Figura 15). Se ubican regularmente entre las fibras colágenas (2). La principal función de los fibroblastos es desarrollar, mantener y regular la matriz extracelular fibrilar, así como la amorfa. También se podría decir que son células multifuncionales, cuentan con la capacidad de degradar el colágeno como respuesta a estímulos fisiológicos, sintetizan proteoglicanos y colágeno tipo I y III (2,4).

Los fibroblastos juegan un papel importante en la inflamación y la curación. Estos secretan factores angiogénicos como FGF-2 y VEGF, especialmente después de una lesión, que ayudan en la curación. También se ha demostrado que secretan factores estimulantes de colonias, que ayudan en la migración de las células principales que expresan histocompatibilidad de clase II al tejido pulpar. Liberan mediadores inflamatorios, citocinas y factores de crecimiento. En cultivos celulares forman tejido mineralizado como el hueso al ser estimulados (5).

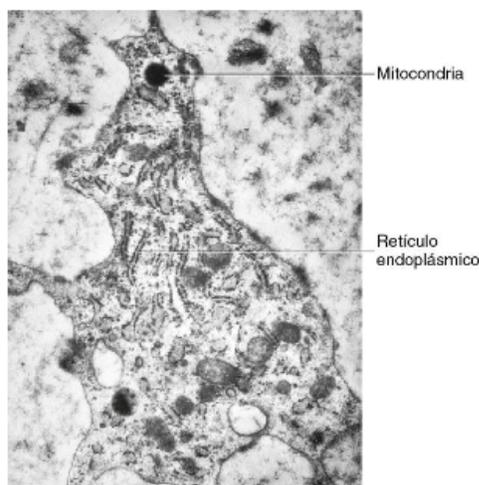


Figura 15. Fibroblasto bajo el microscopio (5).

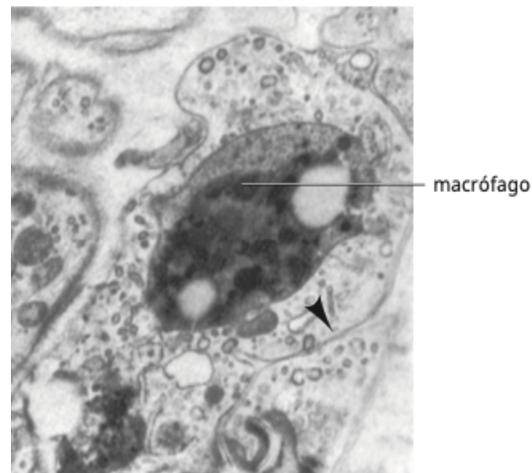
Macrófagos

Son monocitos que han abandonado el torrente sanguíneo (2). Su morfología varía según estén fijos o libres en el tejido conjuntivo. Los macrófagos libres presentan una forma redondeada con pequeños repliegues citoplasmáticos en la periferia y los macrófagos fijos confieren una apariencia irregular debido a las prolongaciones citoplasmáticas. Además, su núcleo suele tener una morfología

característica de escotado y ligeramente excéntrico. A nivel ultraestructural, tienen abundantes vacuolas, lisosomas, un complejo de Golgi y un REL especializado (4).

Gracias a su movilidad y actividad fagocítica y endocítica, pueden actuar como eliminadores de desechos, eliminando glóbulos rojos extravasados, células muertas y sustancias extrañas. Además, producen hidrolasas ácidas, las que van a facilitar su traslado dentro del tejido conjuntivo. En pulpa, los macrófagos desempeñan un papel crucial en la respuesta inflamatoria; participan también en las reacciones inmunológicas al procesar los antígenos y presentarlos a los linfocitos (2,4).

Figura 16. Macrófago bajo el microscopio (5).



Células dendríticas

Son elementos accesorios del sistema inmune. Se nombran como células presentadoras de antígeno; su principal característica son sus prolongaciones citoplasmáticas (2). Confieren una estructura ramificada y un diámetro de 50 pm aproximadamente. Se distribuyen en todo el tejido pulpar y configuran un retículo. Aunque, se pueden encontrar en mayor concentración en dos zonas: región perivascular y región subodontoblástica, pero ante un estímulo migran hacia la pulpa central (4).

Tienen la capacidad de inducción de inmunidad de las células T, del mismo modo, participan en la respuesta inmunitaria primaria. Su función es capturar a los antígenos, procesarlos y después llevarlos a los ganglios linfáticos regionales a través de los vasos linfáticos, lugar donde los presentan a las células linfoides (4,5).

Linfocitos

En pulpa sana se comunicó el hallazgo de linfocitos T. Principalmente linfocitos T8, los cuales constituyen el subconjunto predominante. Los linfocitos B son escasos (2).

Mastocitos

Ampliamente distribuidos, conforman pequeños grupos en la proximidad de los vasos sanguíneos. Se localizan principalmente en pulpas con inflamación crónica. Estas células contienen heparina e histamina (2).

Células mesenquimatosas o células madre

Las células madre de la pulpa dental son consideradas como células de reserva, ya que tienen la habilidad de diferenciarse en odontoblastos y fibroblastos, dependiendo del estímulo presente (2). Según Gómez (4), se han encontrado dos tipos de células madre de naturaleza mesenquimatosas: células madre de la pulpa dental propiamente dicha (DPSC) y células madre de la papila apical (SCAP). Las células DPSC se caracterizan por su forma fusiforme, similar a la de los fibroblastos, aunque también pueden tener morfologías variables en distintas etapas de actividad. En su estructura, se observan mitocondrias elongadas y un retículo endoplásmico rugoso abundante en la zona perinuclear. Además, el núcleo puede contener más de un nucleolo. Las células DPSC se distinguen por poseer diversos tipos de marcadores que reflejan su posible potencialidad (4).

2.4 Fibras de la pulpa dental

- 1) **Fibras colagenasas:** formadas principalmente de colágeno tipo I. Según la región donde se encuentren puede variar la distribución y proporción. Presentan una posición irregular coronalmente y apicalmente una forma paralela. Conforme a la edad, aumenta la densidad y diámetro (2,4).
- 2) **Fibras reticulares:** se componen de colágeno tipo III principalmente, se encuentran ampliamente distribuidas en el tejido pulpar, excepto en la zona odontoblástica, ahí se entrelazan entre las células presentes y forman el plexo de Von Korff (4,5).
- 3) **Fibras elásticas:** son muy delgadas, pero se encuentran principalmente en las paredes de los vasos sanguíneos. Se componen de elastina y suelen ser difíciles de localizar.(4).
- 4) **Fibras de oxitalán:** se encuentran en la pulpa en desarrollo. Son difíciles de identificar y se les considera fibras elásticas inmaduras (4).

2.5 Sustancia fundamental

La sustancia básica o matriz extracelular amorfa en la pulpa dental está compuesta principalmente por proteoglicanos, que incluyen decorina, biglicano y agua. Los proteoglicanos consisten en un

núcleo de proteínas y cadenas laterales de glicosaminoglicanos (GAG). Los GAG más importantes son el condroitín 4 y 6 sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato y ácido hialurónico. El dermatán sulfato es el GAG dominante en la matriz extracelular de la pulpa dental en dientes recién erupcionados. Los proteoglicanos participan en la viscosidad de la matriz extracelular, otorgándole una consistencia gelatinosa (2,4,5).

La fibronectina también se encuentra en la periferia de la pulpa y está asociada con la formación de la matriz dentinaria por parte de los odontoblastos. Se ha observado que en las pulpas de personas mayores y en las pulpas inflamadas, hay una ausencia o falta de expresión de esta glicoproteína. Por último, la sustancia fundamental actúa como fuente de nutrientes para las células, al mismo tiempo que los productos de desecho se eliminan y se transportan hacia la circulación saliente (4).

3. Microbiología

3.1 Pulpitis Irreversible (PI)

La pulpitis irreversible se presenta como una respuesta inflamatoria dentro del espacio pulpar, frecuentemente como consecuencia de microorganismos provenientes de caries profundas, aunque diversas causas pueden desencadenar esta enfermedad. Esta condición se clasifica clínicamente en dos tipos: pulpitis irreversible asintomática (PIA) y pulpitis irreversible sintomática (PIS) (7).

Según Donnermeyer et al. (8), la presencia de microorganismos en el tejido pulpar es crucial para determinar la capacidad de recuperación de la pulpitis, aunque su detección clínica no siempre es sencilla. Se estima que entre el 14 % y el 60 % de los casos de pulpitis irreversible son clínicamente asintomáticos, y en un 15,6 % de los casos, los diagnósticos clínicos e histológicos no concuerdan.

La pulpa dental puede ser infectada a través de diversas vías microbianas, como la exposición de los túbulos dentinarios, la exposición directa de la pulpa, a través de enfermedades periodontales, así como los forámenes laterales y apicales, las cuales desencadenan procesos inflamatorios en la pulpa. Se ha documentado la presencia de una variedad de especies bacterianas en los conductos radiculares de los dientes asociados con la pulpitis irreversible (9). Aunque la literatura señala que las infecciones endodónticas generalmente son causadas por grupos de bacterias anaerobias gram negativas predominantes, entre las cuales se encuentran *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, entre otras (2,9,10).

Fusobacterium

La bacteria predominante de este género es *Fusobacterium nucleatum*, una bacteria gram negativa con un tamaño aproximado de 2.4 Mpb. Este microorganismo realiza la fermentación intracelular, generando ácido butírico como principal subproducto. Además de contener lantionina en su peptidoglicano, posee diversas adhesinas en su envoltura celular que facilitan su coagregación con varias otras bacterias (11).

Porphyromonas

Se caracteriza por ser un género de bacilos cortos, gram negativa, anaerobios, y sacarolíticos. En la cavidad bucal, se encuentran varias especies, como *P. gingivalis* y *P. endodontalis*. Con un genoma que oscila entre 2.1 y 2.3 Mpb, estas bacterias tienden a formar colonias pigmentadas de color rojo oscuro en medios que contienen sangre, gracias a la incorporación del grupo hemo en su envoltura celular (11).

Peptostreptococcus

Identificado como un bacterias anaerobias, gram positivas y no formadoras de esporas, la especie *P. micros*, destaca por su capacidad para producir enzimas proteolíticas. De forma y tamaño irregular, sensible a los betalactámicos, esta bacteria es capaz de desencadenar diversas infecciones. Aunque, se consideran parte de la microbiota normal que habita en la boca de los seres humanos (11).

Prevotella

Bacilo anaerobio estricto gram negativo no esporulado y no móvil, exhibe actividad proteolítica. Con un tamaño variable, esta bacteria se encuentra en lesiones avanzadas en dentina, ya que este entorno favorece su crecimiento. Mayormente consideradas microorganismos periodontopatógenos, las especies residentes en la cavidad bucal poseen diversos mecanismos de virulencia, como las fimbrias (11,12).

En diversos estudios tales como Barani et al. (13), que involucró a 108 participantes, se sometió el tejido pulpar con pulpitis irreversible, a un análisis microbiológico e histopatológicos. Los resultados de los análisis revelaron una alta prevalencia de *Clostridium baratii*, *Clostridium bifermentans* (anaerobios), así como la *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* y *Granulicatella elegans* en el caso de (aeróbicos); de la misma manera Zargan et al. (14) determinó que la especie más prevalente de pulpitis irreversible pertenece al *Firmicutes*, filo gram positivo. y en el análisis de Zheng et al. (10) indicó también que en los casos de pulpitis irreversible, la abundancia de *Firmicutes* fue notablemente alta, además menciona que el género dominante fue *Lactobacillus*.

Clostridium baratii

Bacteria anaeróbica, formadora de esporas y gram positiva. Se localiza principalmente en el suelo, el agua y el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Puede ser patógena y desencadenar enfermedades graves, las intoxicaciones por *Clostridium baratii* pueden resultar en enfermedades potencialmente mortales (15).

Clostridium bifermentans

Es un tipo de bacteria en forma de bacilo, anaerobio, con la capacidad de formar esporas. Tiene la capacidad de llevar a cabo la fermentación de sustratos orgánicos para obtener energía, generando ácido láctico y ácido acético como productos metabólicos. Aunque menos conocida que otras especies dentro del género *Clostridium*, esta bacteria puede mostrar capacidad patógena, dando lugar a infecciones (16).

Streptococcus oralis

Gram positiva, facultativa aerobia, se encuentra en la cavidad oral y desempeña un papel crucial en el equilibrio del microbioma oral. Como componente principal de la microbiota bucal, coloniza tanto la superficie de los dientes como las encías. En ciertas condiciones favorables puede transformarse en un patógeno oportunista, contribuyendo a la formación de placa dental y caries (17).

Streptococcus mitis

Bacteria gram positiva forma parte de la microbiota de la cavidad oral y del tracto respiratorio superior. Mayormente considerada comensal, coloniza la boca y contribuye a mantener la salud oral al competir con bacterias patógenas y formar biofilm dental. No obstante, en individuos inmunocomprometidos, puede transformarse en un patógeno oportunista (18).

Granulicatella elegans

Previamente identificada como *Streptococcus elegans*, gram positiva, anaerobia facultativa que se localiza habitualmente en la boca, el tracto respiratorio superior y el tracto gastrointestinal humano como parte de la microbiota. Aunque mayormente inofensiva, puede volverse un patógeno oportunista, especialmente en individuos inmunocomprometidos (19).

Por lo tanto, las variaciones en la microbiota de las infecciones endodónticas podrían ser atribuidas a diferencias en el huésped, factores ambientales, condiciones de salud pública, hábitos dietéticos, respuesta inmunitaria del paciente y el clima en distintas regiones geográficas (14).

3.2 Caries

La caries dental es la enfermedad multifactorial dinámica, crónica, prevenible, reversible, compleja, no transmisible; más prevalente en el mundo, afectando a todo tipo de edad a lo largo de todo el ciclo de vida (20). La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como un proceso patológico localizado que ocurre una vez producida la erupción dental y puede generar reblandecimiento del diente evolucionando hasta la formación de una concavidad (21).

Es la enfermedad bucal más común en el mundo, se calcula que alrededor del 60-90 % de la población mundial la padece (22). En los últimos 25 años, la prevalencia de caries se ha mantenido, manejando niveles elevados (23).

La cavidad oral constituye un ecosistema complejo que alberga una diversidad de microorganismos, incluyendo bacterias, arqueas, hongos y virus. Las bacterias representan el componente principal de

esta comunidad heterogénea. Hasta la fecha, se han identificado y estudiado un total de 774 especies bacterianas en la cavidad oral. De estas, aproximadamente el 58 % han sido identificadas y oficialmente clasificadas, sin embargo, un 16 % aún no han recibido una denominación formal, y el 26 % restante aún no se ha estudiado. Mayormente se clasifican en seis filos principales: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes* y *Spirochaetes*. Además, se han detectado bacterias en la placa dental y la saliva que están asociadas con infecciones gastrointestinales, como el *H. pylori*. Esto sugiere que la cavidad oral podría actuar como un reservorio extragástrico de este microorganismo, desempeñando un papel significativo tanto en su transmisión como en su recurrencia (23,24).

Siendo una enfermedad multifactorial, existe la interacción de factores para producir la enfermedad: huésped, microflora, sustrato y tiempo. Para la formación de un proceso carioso se necesita que las condiciones de los factores sean ventajosas; como un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato cariogénico en un lapso determinado de tiempo (25).

3.2.1 Factores relacionados con el huésped

Saliva

Se trata de una solución supersaturada de calcio y fosfato que contiene una variedad de componentes, entre los cuales se incluyen flúor, proteínas, enzimas, agentes buffer, inmunoglobulinas y glicoproteínas. La saliva desempeña un papel fundamental en el equilibrio ácido-base, dado que las bacterias, que son acidogénicas, metabolizan rápidamente los carbohidratos para obtener ácido como producto final (25). Existen diversos tipos de bacterias presentes en la saliva, especialmente característicos del biofilm dental, aunque también se han identificado otras bacterias que no se clasifican típicamente o que se categorizan como parte del medio oral, como es el caso de *H. pylori*. La prevalencia de la detección de este microorganismo no se ha informado ampliamente. Los estudios muestran que la detección de *H. pylori* en la saliva generalmente alcanza tasas de alrededor del 50%, utilizando técnicas de PCR o métodos de cultivo (24). El sistema buffer asegura que el pH disminuya rápidamente durante la ingesta de carbohidratos, para luego aumentar constantemente, gracias a la concentración de bicarbonato presente (25).

También, se han identificado proteínas ricas en prolina que interactúan con la periferia del esmalte, formando parte de una capa depositada sobre él, conocida como película adquirida. Esta película desempeña un papel importante en la protección, remineralización y la colonización de bacterias. Además de las proteínas, se han aislado péptidos como la beta defensina, que exhibe actividad antimicrobiana al inhibir la formación de biofilm y, por ende, el desarrollo de caries (25).

3.2.2 Factores relacionados con la microflora

Bacterias

Para poder desarrollarse la caries, se necesita una adhesión inicial bacteriana a la superficie del esmalte, dicha adhesión se encuentra programada por la interacción de proteínas del mismo *m.o* y la saliva (película adquirida - biofilm). El biofilm es una biopelícula microbiana que se adhiere tenazmente a los dientes y otras superficies duras de la cavidad oral, como las restauraciones. En esta placa, las comunidades microbianas están incrustadas en una matriz extracelular compuesta de materiales orgánicos e inorgánicos de origen huésped y microbiano. La flora microbiana es muy compleja; se han detectado más de 500 especies diferentes de bacterias. Estas especies bacterianas, se relacionan con otras especies bacterianas a través de interacciones específicas (24). La interacción se genera por medio de adhesinas, cargas electrostáticas de las proteínas y grupos ionizables en sus aminoácidos (25). Mientras la caries progresa, su microflora lo hace sinérgicamente (26).

Streptococcus mutans

Cocos gram positivos en cadenas de 4 a 6 cocos, con dimensiones que oscilan entre 0.5 y 0.8 micrómetros. Estos microorganismos son anaerobios facultativos. Entre los factores de patogenidad que destacan se encuentran el poder acidógeno, la síntesis de polisacáridos, la capacidad adhesiva y la producción de bacteriocinas. Se ha comprobado que *Streptococcus mutans* está presente tanto en las etapas tempranas como en las avanzadas de las lesiones cariosas, siendo identificado como el principal agente etiológico bacteriano en la formación de caries (26).

Lactobacillus

Bacilos gram positivos, clasificados como anaerobios facultativos, con capacidad acidógena y acidúrica. Estos bacilos colonizan lesiones ya formadas, predominando en etapas avanzadas de la enfermedad. Una característica distintiva es su comportamiento heterofermentativo estricto en presencia de gluconato, lo que resulta en la producción de acetato, etanol, formato, lactato y CO₂. En glucosa, adoptan un comportamiento homofermentativo, produciendo principalmente lactato sin CO₂. Sin embargo, debido a la enzima piruvato formato liasa que poseen, también pueden generar acetato, etanol y formato en estas condiciones (26).

Actinomyces

Bacilos filamentosos gram positivos, anaerobios, heterofermentativos, inmóviles y miden de 1 a 4 micrómetros. Producen ácidos orgánicos: succínico, láctico. Se encuentra entre los colonizadores primarios en niños, en lesiones de mancha blanca; también está presente en caries con progresan a dentina profunda (26).

Bifidobacterium

Bacilos anaerobios gram positivos, inmóviles, formación ramificada. Produce ácido láctico y sintetiza la enzima gluconasa. Se encuentra en lesiones profundas, siendo éste mayor que *S. mutans* (26).

Veillonella

Diplococos gram negativos, anaerobios estrictos, inmóviles, tiene la capacidad de neutralizar y metabolizar ácidos producidos por otras bacterias. No existe una asociación directa de esta bacteria con la caries dental, pero se ha encontrado que en interacción con el *S. mutans* genera una mayor producción de ácido y desmineralización. Esto en cavidades amplias (26).

3.2.3 Factores relacionados con el sustrato cariogénico

El elevado consumo de azúcares simples, contribuye al sustrato disponible para la microflora oral y desencadenan la cariogénesis. El compuesto más cariogénico establecido es la sacarosa, la cual se forma por fructosa y glucosa principalmente. Esto se debe no solo a que su metabolismo genera medios ácidos, sino también porque el *Streptococcus mutans* la usa para producir glucano, polisacárido extracelular que facilita la adhesión firme de la bacteria a la superficie dental (25).

3.2.4 Proceso carioso con extensión al tejido pulpar y perirradicular (2) (Diagrama 1)

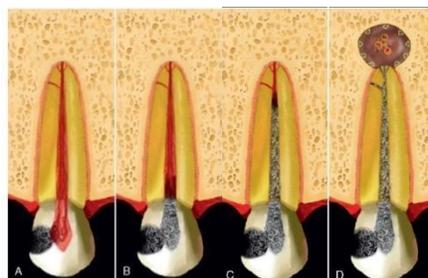
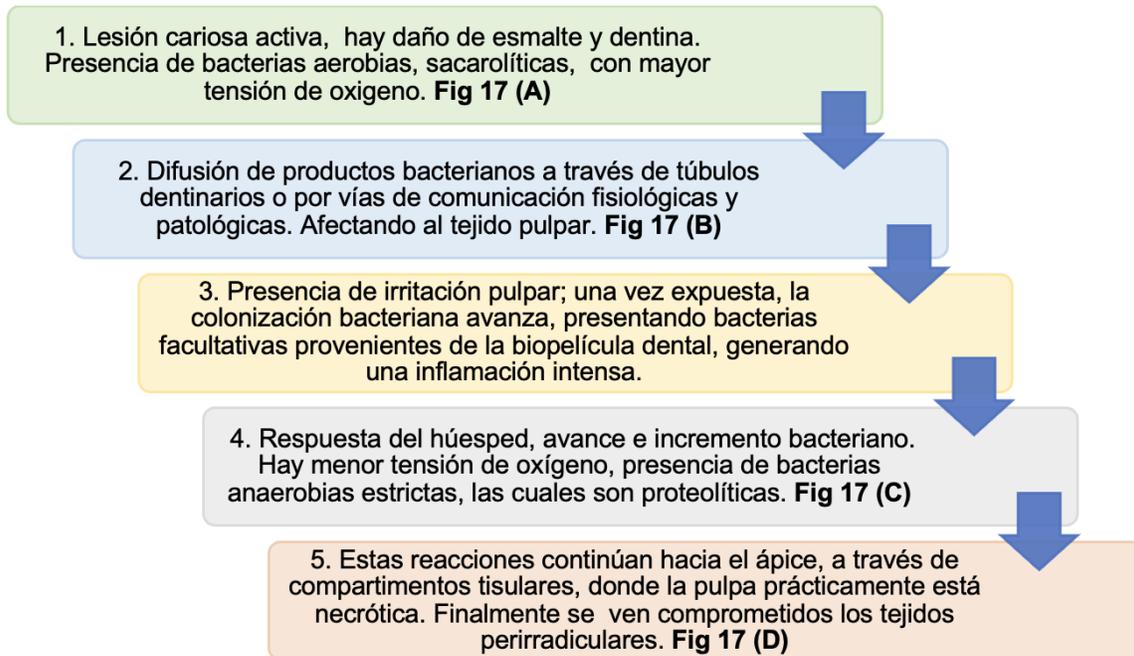


Figura 17. Proceso carioso con extensión al tejido pulpar y perirradicular (2).

4. Enfermedades pulpares y periapicales

La terminología y clasificación se establece de acuerdo con la American Board of Endodontics (ABE) y la American Association of Endodontists (AAE) (2,27).

4.1 Clasificación de las enfermedades pulpares (2,27) (Tabla 1).

PULPAR	TERMINOLOGÍA	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS
Pulpa Sana	Diagnóstico clínico en el que la pulpa está libre de sintomatología.	<ul style="list-style-type: none"> - Sin signos ni patología aparentes. - Asintomática. - Respuesta leve o transitoria normal a las pruebas térmicas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Radiográficamente normal, sin alteración periapical.
Pulpitis reversible	Diagnóstico clínico el cual se basa en los hallazgos subjetivos y objetivos que indican que la inflamación pulpar es capaz de curarse.	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: pulpa irritada por caries incipiente, procedimientos dentales, trauma moderado. - Síntomas: dolor provocado, fugaz y localizado. Responde a estímulos externos como frío, calor, dulce o ácido. - Pruebas: pulpares (+), periapicales (-) - Tratamiento: identificar factor etiológico y eliminarlo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sin cambios radiográficos en región periapical.
Pulpitis irreversible sintomática	Diagnóstico clínico donde los hallazgos subjetivos y objetivos indican que la pulpa inflamada no tiene	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: caries profundas avanzadas, restauración con filtración o caries recidivante, exposición dentinaria prolongada. 	<ul style="list-style-type: none"> - Ligeramente ensanchamiento del ligamento periodontal. - Zona radiolúcida en corona asociada a caries, o radiopaca por restauraciones extensas.

	la capacidad de curarse.	<ul style="list-style-type: none"> - Síntomas: dolor espontáneo, provocado, persistente e irradiado, dolor nocturno. - Pruebas: pulpares (+) , percusión (+) o (-) - Tratamiento: biopulpectomía. 	
Pulpitis irreversible asintomática	Diagnóstico clínico donde los hallazgos subjetivos y objetivos indican que la pulpa inflamada no tiene la capacidad de curarse.	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: bacterias provenientes de caries profunda, fracturas o fisuras, traumas. - Síntomas: asintomático. - Pruebas: pulpares (+) reducido, periapicales (-) - Tratamiento: biopulpectomía. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ligero ensanchamiento del ligamento periodontal. - Zona radiolúcida en corona asociada a caries, o radiopaca por restauraciones extensas.
Necrosis pulpar	Diagnóstico clínico en donde se establece la muerte de la pulpa.	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: inflamación persistente sin tratamiento con invasión bacteriana. - Síntomas: asintomático. Aunque pueden existir síntomas por la extensión de la enfermedad hacia tejidos perirradiculares. - Pruebas: pulpares (-), periapicales (-) o (+) - Tratamiento: necropulpectomía 	<ul style="list-style-type: none"> - Ensanchamiento del ligamento periodontal o lesión apical. - Zona radiolúcida en corona asociada a caries, o radiopaca por restauraciones extensas.
Previamente tratado	Diagnóstico clínico que establece que el diente ha sido	<ul style="list-style-type: none"> - Puede presentar o no signos y síntomas. 	<ul style="list-style-type: none"> -Conductos obturados.

	tratado endodónticamente.		
Previamente iniciado	Diagnóstico clínico donde se establece tratamiento previo con terapia endodóntica parcial.	- Puede responder o no signos y síntomas.	-Sin cambios en los tejidos de soporte

4.2 Clasificación de las enfermedades periapicales (2,27).

PERIAPICAL	TERMINOLOGÍA	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS
Tejido periapical sano	Tejidos perirradiculares que no son sensibles a las pruebas de percusión o palpación. Lámina dura intacta y espacio del ligamento periodontal es consistente.	<ul style="list-style-type: none"> - Sin signos ni patología aparentes. - Asintomática. - Negativo a la palpación y percusión. 	<ul style="list-style-type: none"> - Radiográficamente normal, sin alteración periapical. - Lámina dura intacta.
Periodontitis apical sintomática	Inflamación, generalmente del periodonto apical, que produce síntomas clínicos y una respuesta dolorosa a la mordedura y/o percusión o palpación. Podría o no estar asociado con zona radiolúcida apical.	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: microbiana y oclusión traumática. - Síntomas: dolor intenso al contacto, sensibilidad a la masticación (diente elevado). - Pruebas: pulpares (-), percusión, palpación y movilidad (+). - Tratamiento: necropulpectomía, quitar puntos prematuros de contacto (oclusión traumática) 	<ul style="list-style-type: none"> - Tejido perirradicular normal o con ligero aumento del espacio del ligamento periodontal.

<p>Periodontitis apical asintomática</p>	<p>Hay inflamación y destrucción apical, de origen pulpar. Aparece como un área radiolúcida, sin producir síntomas clínicos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: proceso inflamatorio de larga duración causado por la presencia de bacterias. - Síntomas: asintomática. - Pruebas: pulpares (-) , percusión y palpación (-). - Tratamiento: necropulpectomía. 	<p>- Lesión apical radiolúcida difusa o circunscrita.</p>
<p>Absceso apical agudo</p>	<p>Reacción inflamatoria consecuente a la infección pulpar. Está caracterizado por rápida aparición, dolor espontáneo, sensibilidad a la presión, formación de pus e inflamación de tejidos asociados.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: condiciones del huésped, necrosis pulpar y proliferación bacteriana. - Síntomas: dolor persistente, sensación de diente "largo", inflamación intraoral difusa, fiebre y malestar general. - Pruebas: pulpares (-), percusión, palpación y masticación (+). - Tratamiento: necropulpectomía, antibioticoterapia, drenado transmucoso y analgésicos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento del espacio del ligamento periodontal en región apical. - Puede o no haber cambios en el tejido periapical circundante.
<p>Absceso apical crónico</p>	<p>Reacción inflamatoria a la infección pulpar. Está caracterizado por un inicio gradual, poca o ninguna incomodidad. Presencia característica de tracto sinusal.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: proceso inflamatorio de larga duración causado por la presencia de bacterias y sus subproductos. - Síntomas: asintomática, presencia de fístula. - Pruebas: pulpares (-), percusión (-), palpación (+). - Tratamiento: necropulpectomía 	<ul style="list-style-type: none"> - Lesión apical radiolúcida difusa o circunscrita. - Realizar fistulografía.

Osteitis condensante	Lesión radiopaca difusa, la cual indica una reacción ósea localizada a un estímulo inflamatorio, generalmente se observa en el vértice radicular.	<ul style="list-style-type: none"> - Etiología: pulpitis o necrosis pulpar. - Síntomas: asintomática. - Pruebas: depende del estado pulpar. - Tratamiento: depender del estado pulpar. 	<ul style="list-style-type: none"> - Zona radiopaca apical difusa alrededor del ápice.

5. *Helicobacter Pylori*

El *H. pylori* es una bacteria microaerófila, bacilo gram negativa, helicoidal, espirilada y elevada movilidad (28,29). Mide aproximadamente 2 a 3.5 micrómetros de largo por 0.5 a 1.0 de ancho, con múltiples flagelos que van desde 4-8 (30,31) (Figura 18). Vista por primera vez en 1979 por Warren en biopsias de epitelio gástrico inflamado y, posteriormente, en gastritis asociadas a úlcera péptica. Para 1983, fue dado a conocer el descubrimiento, como el primer aislamiento de esta bacteria junto al científico Marshall (32,33).

Pertenece a la subdivisión de las *Epsilonproteobacterias*, familia *Helicobacteriaceae* (34). Actualmente, el género se conforma con más de 30 especies que se han clasificado en dos linajes: gástrico y no gástrico o enterohepático. El linaje gástrico cuenta con las especies: *H. pylori*, *H. canis*, *H. cinaedi*, *H. felis*, *H. fennelliae*, *H. pullorum*, *H. westmeadii* y *H. rappini* (35-37). Representa solo un tercio de todas las especies, siendo el *H. pylori* más representativo ya que, se considera el agente causal de la gastritis crónica activa, la úlcera péptica y duodenal, cáncer gástrico y las neoplasias linfoides asociadas a la mucosa (MALT) (31). La Organización Mundial de la Salud clasificó la infección crónica por *H. pylori* como un carcinógeno tipo I en 1994 y la afirmó en 2009 (38).

Además, González et al. (39) menciona que recientemente, también se ha asociado con enfermedades ajenas al tracto gastrointestinal, como la púrpura trombocitopénica inmunitaria, la anemia ferropénica, la deficiencia de vitamina B12, los trastornos neurodegenerativos y el síndrome metabólico.



Figura 18. *Helicobacter Pylori* (23).

La patogenicidad de *H. Pylori* dependen de la alta variabilidad genómica de esta bacteria, donde el predominio de infecciones está asociada a condiciones sanitarias deficientes, nivel socioeconómico bajo, alto flujo demográfico y aumento en la resistencia de antibióticos (34,39). Según Alarcón et al. (40), la prevalencia mundial de la infección ronda el 44,3% actualmente; Wareeporn et al. (28) establece que se observa en aproximadamente el 25% de la población en países desarrollados y

entre el 70-90% en países en desarrollo. Aunque clínicamente, más del 80 % de los casos son asintomáticos (31).

La vía de transmisión más probable es la oro-fecal, especialmente a través de alimentos contaminados y oral-oral por la presencia transitoria del microorganismo en la boca (39). Se ha encontrado esta bacteria en la biopelícula oral, así como en agua y alimentos principalmente (28).

H. pylori ingresa por la cavidad oral, desciende al tubo digestivo y por su alta motilidad se mueve hasta la superficie de mucus que recubre las células epiteliales de la mucosa gástrica (42). Se adhiere al epitelio gástrico produciendo adhesinas, que interactúan con los receptores de la célula huésped (39). En la fase inicial de la infección, *H. Pylori* neutraliza el ambiente ácido del estómago al liberar ureasa, que hidroliza la urea para generar dióxido de carbono y amoníaco que neutralizan el microambiente ácido que rodea a la bacteria. Durante la fase aguda de colonización, existe una resistencia al estrés oxidativo causado por una respuesta inflamatoria excesiva e infiltración de neutrófilos. En fase crónica de la infección, esta bacteria regula negativamente la respuesta inmune del huésped, impulsando una tolerancia inmunitaria en lugar de una respuesta protectora. Estas interacciones específicas protegen a las bacterias del desplazamiento provocado por las fuerzas producidas durante la peristalsis, lo que conduce a una infección exitosa y persistente (34,39).

De acuerdo con Zhang et al. (43) nos afirma la existencia de *H. pylori* en la cavidad oral, en una variedad de nichos orales, como la placa dental, saliva, pulpa infectada y las bolsas periodontales; aunque aún no está muy claro cómo se adapta al entorno bucal. Se ha encontrado que el *H. pylori* oral aumenta la gravedad de las infecciones gástricas, reflujo gástrico, duodenitis, relajación del esfínter esofágico y dificulta la erradicación. Teniendo una estrecha asociación y coinfección en la placa gástrica y dental de un 49,7%. Anand et al. (44) menciona que, el *H. pylori* presente en la placa dental, al estar asociado a la biopelícula, está protegido de los antibióticos sistémicos administrados para el tratamiento de la infección gástrica. Como resultado, el microorganismo puede persistir en la cavidad oral incluso después de una erradicación exitosa del estómago , por lo tanto, existe la posibilidad que pueda servir como una posible fuente de reinfección y recolonización del estómago. Hay una mayor prevalencia de que se encuentre en la placa dental que en la saliva, ya que esta proporciona varios beneficios para la reproducción, metabolismo y defensa. Así mismo, por medio de la biopelícula puede llegar a la pulpa dental a través de las cavidades de caries profundas y sobrevivir en ella (43).

Hoy en día, se dispone de métodos tanto invasivos como no invasivos para diagnosticar la infección por *H. pylori*. Entre los métodos no invasivos se encuentran la prueba de aliento con urea (PAU), las pruebas de antígenos en heces y la serología; mientras que los métodos invasivos comprenden la endoscopia, las pruebas histopatológicas, los cultivos y la prueba rápida de ureasa. El tratamiento

de primera línea consiste en la administración de antibióticos como claritromicina, amoxicilina o metronidazol, junto con un inhibidor de la bomba de protones (45).

6. Métodos de diagnóstico

Se cuenta con múltiples métodos de diagnóstico para la detección del *H. Pylori*, tanto invasivos, donde se requiere una muestra de tejido por medio de endoscopia y los no invasivos; como pruebas de aliento (46,47).

6.1 Histología

Primer método utilizado para la detección del *H. pylori* (48). Es una de las pruebas con mayor utilidad y considerada por muchos como el estándar de oro (49). Esta técnica presenta sensibilidad 95% y especificidad 98% (50). Además, la histología evalúa el estado de la mucosa gástrica, patologías asociadas a la infección, atrofia gástrica o metaplasia intestinal (46,49). Los resultados dependen de la calidad, distribución de la bacteria, número de biopsias, método de tinción utilizado y experiencia del técnico o patólogo (49,50). También, existen falsos negativos, principalmente se pueden encontrar pacientes que consumen inhibidores de bomba de protones. La detección se realiza por medio de distintas tinciones, tales como la hematoxilina-eosina, PAS, inmunohistoquímica, entre otras (46).

6.1.1 Tinción con Hematoxilina-Eosina (H&E)

Es la tinción utilizada habitualmente, nos ayuda en la evaluación de la gravedad de la inflamación junto con la detección del *H. pylori* (48,50). De tal modo que, H&E pone en evidencia las características estructurales del tejido, puesto que, la hematoxilina es un colorante con propiedades básicas; tiñe violeta - azulado intenso: los ribosomas, el núcleo, etc. La eosina al ser un colorante ácido, tiñe de rosa anaranjado; estructuras como: citoplasma, colágeno, tejido conectivo, entre otros (51). Sin embargo, no define la concentración, ni forma del *H. pylori*, confundida en varias ocasiones por moco o detritus, dando falsos positivos. Por lo cual, es necesario complementar con otros métodos (52).

Aunque, Frías et al. (49) nos menciona un estudio retrospectivo realizado por *Smith y cols.* hace unos años, en donde se obtuvieron 200 muestras de mucosa gástrica, encontraron que el *H. pylori* se puede observar con facilidad en tinción con H&E (Sensibilidad 91% y Especificidad 100%), haciendo este método conveniente y menos costosa para determinar el *H. pylori* en mucosa gástrica.

6.1.2 Inmunohistoquímica (IHQ)

La inmunohistoquímica se utiliza principalmente cuando las tinciones histoquímicas no detectan adecuadamente la presencia de *H. pylori*, pero hay sospecha del mismo (50).

Sensibilidad y especificidad próximos al 100%. Su principal ventaja sobre otras técnicas es su conservación de las estructuras de los componentes analizados, sobre todo permite la identificación celular (52). También, acorta el tiempo requerido en cuanto a búsqueda bacteriana y sobre todo, tiene la capacidad de interpretar con alta precisión la presencia de *H. pylori* y diferenciarlo con flora, que pueda verse similar en el corte histológico (46).

6.2 Cultivo

Es considerado un método específico, se obtiene a partir de biopsias gástricas o jugos gástricos. Presenta una especificidad del 100% y una sensibilidad inferior a la histología, que va de 45 a 75%, puesto que el *H. pylori* es una bacteria difícil de cultivar (46,49,50). Este método cuenta con varias utilidades como: clasificación genotípica del *m.o*, diagnóstico microbiológico, toxicidad, virulencia, sensibilidad de diferentes antibióticos, etc (49).

Se deben tomar en cuenta diferentes factores, que intervendrán en la precisión diagnóstica, como: la calidad de la muestra, experiencia del operador, tipo de medio de transporte y tiempo (46).

Este método diagnóstico se utiliza principalmente en aquellos pacientes en los que han fallado varios intentos de tratamiento, permitiendo determinar el impacto a la resistencia antibiótica y la fallas en la erradicación del *H. Pylori*. con ello, se plantean ajustes terapéuticos a futuro (49,50). A pesar de tener múltiples ventajas, es un procedimiento tedioso, conlleva mucho tiempo, mayor costo y más experiencia en general (49).

6.3 PCR

Es un método diagnóstico que permite detectar ADN o ARN bacteriano, principalmente cuando hay fallo en la terapéutica o existe baja carga de *H. pylori*. Además, identifica mutaciones específicas asociadas con resistencia antibiótica y caracterización de genes patógenos (48,50). Respecto a la sensibilidad y especificidad, muestra valores cercanos a 97-100% (46).

Puede realizarse a partir de forma invasiva mediante biopsia y no invasiva (utilizando saliva, heces, etc.) El principal inconveniente del PCR es el alto costo, el tiempo de procesamiento de la biopsia y el manejo de la misma, que nos puede dar falsos positivos. Por lo cual es un método poco empleado en la actualidad (50).

CAPÍTULO 2.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estudio del microbioma humano continúa siendo de gran interés debido a su correlación con el estado de salud general y específico de cada sistema. La comprensión de la coexistencia de enfermedades asociadas a microorganismos que habitan naturalmente en algunos sitios del cuerpo humano es crucial. Estos microorganismos podrían ser causantes de diversas enfermedades. Se destaca la relevancia de caracterizar el biofilm presente en diversas entidades patológicas de la cavidad oral, lo que subraya la importancia de la caracterización del microbioma humano en la pulpitis irreversible.

JUSTIFICACIÓN

Este estudio se enfocará en evaluar la presencia de *Helicobacter pylori* en la pulpitis irreversible, así como poder comprender su caracterización en el tejido pulpar. A menudo, al tratar una enfermedad, se suele centrar exclusivamente en su erradicación, sin considerar cómo los agentes patógenos podrían persistir en otras partes del cuerpo, lo que podría dar lugar a reinfecciones o complicaciones futuras.

Se pretende ampliar la comprensión de la presencia de esta bacteria en el tejido pulpar, abriendo nuevas vías para investigaciones futuras que puedan esclarecer con mayor detalle su función y papel en diversos procesos de patologías pulpares y orales, así como su relación bidireccional con otras enfermedades. Para lograrlo, se utilizarán métodos de investigación específicos, como la inmunohistoquímica, para identificar de manera precisa la presencia de *H. pylori* en el tejido pulpar inflamado.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la presencia y distribución de *Helicobacter pylori* en muestras de pulpas dentales con diagnóstico de pulpitis irreversible con técnica de IHQ.

Objetivos específicos

- a) Describir histológicamente muestras de pulpa radicular, con diagnóstico de pulpitis irreversible, mediante tinción con H&E.
- b) Evaluar mediante inmunohistoquímica pulpa dental inflamada para determinar la presencia de *Helicobacter pylori*.
- c) Analizar la distribución de *Helicobacter pylori* en pulpa.

CRITERIOS

Criterios de inclusión

- a) Dientes con diagnóstico previo de pulpitis irreversible.
- b) Edad de los pacientes 25-50 años.
- c) Sexo indistinto.
- d) Cualquier diente de la cavidad bucal.
- e) No importa el compromiso sistémico.
- f) No importa la presencia de enfermedad periodontal.

Criterios de exclusión

- a) Pulpas mal procesadas.
- b) Pulpa necrótica.

Criterios de control

- a) Tejido gástrico positivo a *Helicobacter pylori*.

HIPÓTESIS

La infección por *H. pylori* se produce durante la infancia al tracto gastrointestinal, específicamente en estómago, esta infección se asocia a la aparición de procesos inflamatorios crónicos, úlceras pépticas e incluso cáncer de estómago. Este microorganismo ha sido identificado en placa dental, saliva y heces, sin embargo, existe muy poca información del mismo en el área de endodoncia, por lo que se considera la hipótesis de que la cavidad bucal, en especial el sistema de conductos radiculares pudiera ser un reservorio permanente por lo anterior, se espera que exista una presencia positiva y significativa de *H. pylori* en muestras de pulpa dental con diagnóstico de pulpitis irreversible.

Hipótesis Nula (H0)

No hay presencia positiva, ni significativa de *H. pylori* en las muestras de pulpa dental con diagnóstico de pulpitis irreversible.

Hipótesis alternativa (Ha)

Existe una presencia positiva y poco significativa de *H. pylori* en las muestras de pulpa dental con diagnóstico de pulpitis irreversible.

CAPÍTULO 3.

METODOLOGÍA

Obtención de la muestra

Se recolectaron 109 pulpas radiculares con diagnóstico de pulpitis irreversible, en consulta privada. Dicho diagnóstico se estableció a partir del protocolo de diagnóstico clínico, radiográfico, y endodóntico, es decir, prueba de sensibilidad frío; las edades de los pacientes oscilaron entre los 25 y 50 años. Se consideró indistinto el género de los participantes, así como su compromiso sistémico y la presencia de enfermedad periodontal; ya que el presente estudio es un estudio morfológico pulpar y no clínico. Previo al tratamiento de conductos, medio por el cual se obtuvieron las pulpa radiculares, se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente, requisito fundamental para la autorización y utilización del tejido pulpar (véase Anexo 1). Posteriormente, se administró anestesia, seguida por un aislamiento absoluto, se llevó a cabo el acceso, eliminando el techo de la cámara pulpar con una fresa de bola de carburo número 4; la entrada de los conductos fue verificada utilizando el instrumento DG16 de la marca Hu-Friedy (Figura 19, A). Una vez identificados, se realizó la extirpación de la pulpa, utilizando limas de calibres 30, 35 y 40 según la especificidad de cada caso (Figura 19, B y C). El tejido pulpar obtenido se sumergió en formaldehído adicionado con fosfatos al 10 %. Tras un lapso de 48 horas, se llevó a cabo el procesamiento histológico con la finalidad de realizar tinción de rutina H&E, así como cortes en laminillas para técnica de inmunohistoquímica (IHQ). Los cortes en tinción de rutina al igual que, las laminillas con IHQ, fueron evaluadas por un patólogo experto.

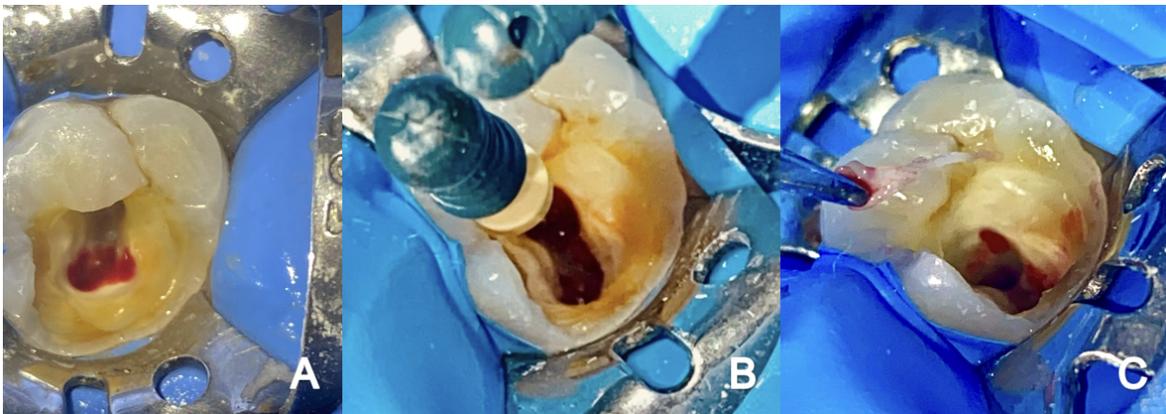


Figura 19. A) acceso con sangrado pulpar en entrada de conductos, B) extirpación del tejido pulpar con lima, C) pulpa dental extraída.

Para iniciar el análisis histológico con H&E (Diagrama 2). Se distribuyeron aleatoriamente una cantidad variable de muestras en cajas pequeñas transportadoras, las cuales fueron codificadas y colocadas en un frasco más grande con formol para su traslado. En el primer corte de muestras se analizaron un total de 27 pulpas, distribuidas en 6 laminillas. Una vez procesadas las laminillas, se observaron bajo el microscopio óptico DM500, marca LEICA; con lentes de aumento de 4x, 10x y 40x para analizar las características del tejido, los cambios celulares y tisulares, así como identificar zonas de carácter bacteriano. El segundo corte se realizó de manera similar, pero en este caso se analizaron 82 pulpas dentales, distribuidas en 12 laminillas, obteniendo al final un total de 18 laminillas y 109 pulpas dentales. Se repitió el análisis microscópico y se tomaron imágenes de todos los campos analizados.

Procesado de las muestras con tinción de H&E

Una vez obtenida la muestra, se colocó en formol y se transportó al laboratorio de práctica privada para su procesamiento. Durante el proceso de parafina/inclusión, las pulpas se colocaron en el procesador, el cual eliminó el agua y constó de 4 pasos por los que pasó la muestra: formol, alcohol, xileno y por último, parafina. Así mismo, se realizó corte con microtomo. Consecuentemente, las muestras se sumergieron en xilol I y luego en xilol II durante 10 minutos cada uno para su desparafinación. Seguidamente, se lleva a cabo una serie de 15 baños en alcohol I y luego en alcohol II al 100%, seguido de una inmersión en alcohol I y luego en alcohol II al 96%, nuevamente con 15 baños cada uno. Posteriormente, se procedió a un lavado de agua corriente durante 5 minutos. Luego, las muestras se tiñeron con hematoxilina por 10 minutos, se enjuagaron con agua corriente por 5 minutos y se trataron con carbonato de litio durante 1 minuto, seguido de otro lavado con agua corriente por 5 minutos. A continuación, se realizó la tinción con eosina mediante 80 baños. Finalmente, las muestras se sumergieron en alcohol I y luego en alcohol II al 96% durante 15 baños cada uno, seguido de otra serie de 15 baños en alcohol I y luego en alcohol II al 100%. Por último, se sumergieron en xilol I y luego en xilol II durante 10 minutos cada uno antes de montarlas con cubreobjetos para su observación microscópica (Diagrama 2).

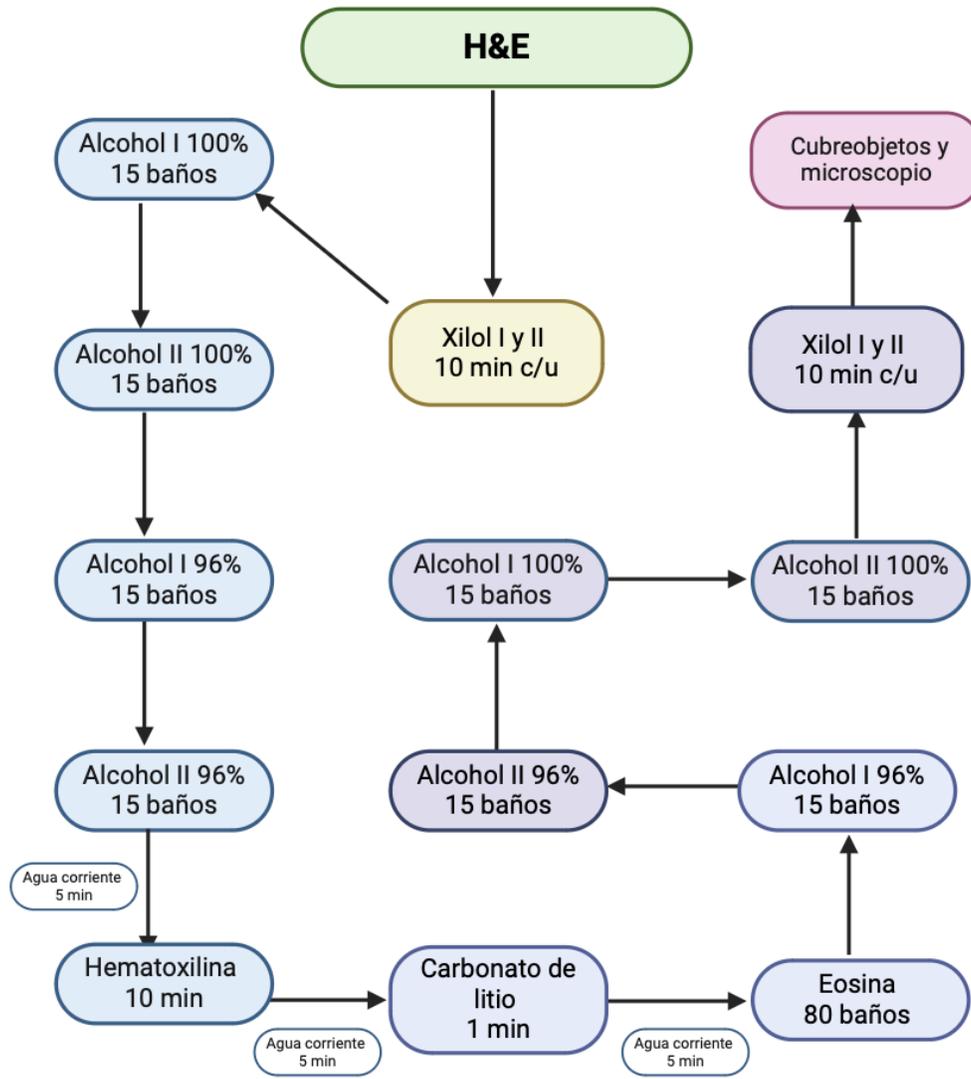


Diagrama 2. Diagrama de tinción con hematoxilina y eosina.

Procesado inmunohistoquímica contra *H. pylori*

Después de obtener y examinar las 18 laminillas teñidas con la tinción de H&E, se optó por llevar a cabo la inmunohistoquímica dirigida contra *H. pylori*. El propósito era identificar específicamente la presencia de esta bacteria en las pulpas dentales con diagnóstico de pulpitis irreversible, ya que se observaron áreas de interés durante la tinción con H&E. Debido a que las muestras ya estaban en

cubos de parafina, el procesamiento fue más rápido, aunque el montaje resultó más complejo debido a que algunas muestras resultaron estar superpuestas al analizarlas. Aunque este problema fue mínimo, es relevante para nuestros resultados posteriores. La IHQ se llevó a cabo en un solo corte, procesando las 18 laminillas simultáneamente. A cada una de las laminillas procesadas contra *H. pylori* se les añadió una pequeña porción de biopsia de tejido gástrico que presentaba la bacteria. Esta porción de tejido sirvió como control para comparar y analizar junto con las pulpas estudiadas. Las muestras de tejido gástrico se recolectaron de manera externa e independiente al estudio.

Al examinar las muestras bajo los aumentos de 4X, 10X y 40X, se identificaron numerosos campos de relevancia para nuestra investigación. Además de la obtención de gran cantidad de imágenes histológicas.

Una vez obtenidos los bloques de parafina, se procedió al corte de la muestra con el microtomo, aproximadamente a un grosor de 2 micras. Posteriormente, la muestra extendida se colocó en un baño María para realizar un movimiento de arrastre, de modo que quedará adherida a la laminilla, la cual era importante que estuviera codificada. Posteriormente, se llevó a cabo el proceso de desparafinado, donde la placa se colocó en una caja con calor directo, aproximadamente a 50° C, con el fin de eliminar la cera de la muestra. Después, la muestra se transfirió a una olla de presión con agua destilada a una temperatura de 110° C durante 15 minutos. Se lavó con agua destilada y se trató con peróxido de hidrógeno para bloquear posibles contaminantes como sangre o minerales residuales; se trasladó la laminilla al Rag y Cover play en agua destilada, utilizando una pipeta, se llenó la laminilla colocada en el Rag con PBS hasta el borde, y se esperó 4 minutos. Luego, se aplicó el anticuerpo *H. Pylori* con la pipeta y se tapó durante 30 minutos, seguido de un lavado con PBS y una espera adicional de 4 minutos (por capilaridad). Se añadió biotina y se tapó, lo cual es esencial para la señalización del anticuerpo y el antígeno, y se esperó 20 minutos. Después, se enjuagó con PBS durante 4 minutos. Se aplicaron gotas rojas, se tapó y se esperó 10 minutos, seguido de otro lavado con PBS durante 4 minutos. Se utilizó DAB para el marcado y se volvió a identificar en el microscopio. La laminilla se sumergió en hematoxilina, seguida de enjuagues. Se introdujo en carbonato de litio para ajustar el color azul. Luego, se pasó por alcohol al 96%, alcohol absoluto y, finalmente, xileno. En este paso, era crucial no dejar restos de agua, ya que podrían opacar o blanquear la muestra. Por último, se aplicó resina sistémica y se montó en portaobjetos para su observación al microscopio (Diagrama 3).

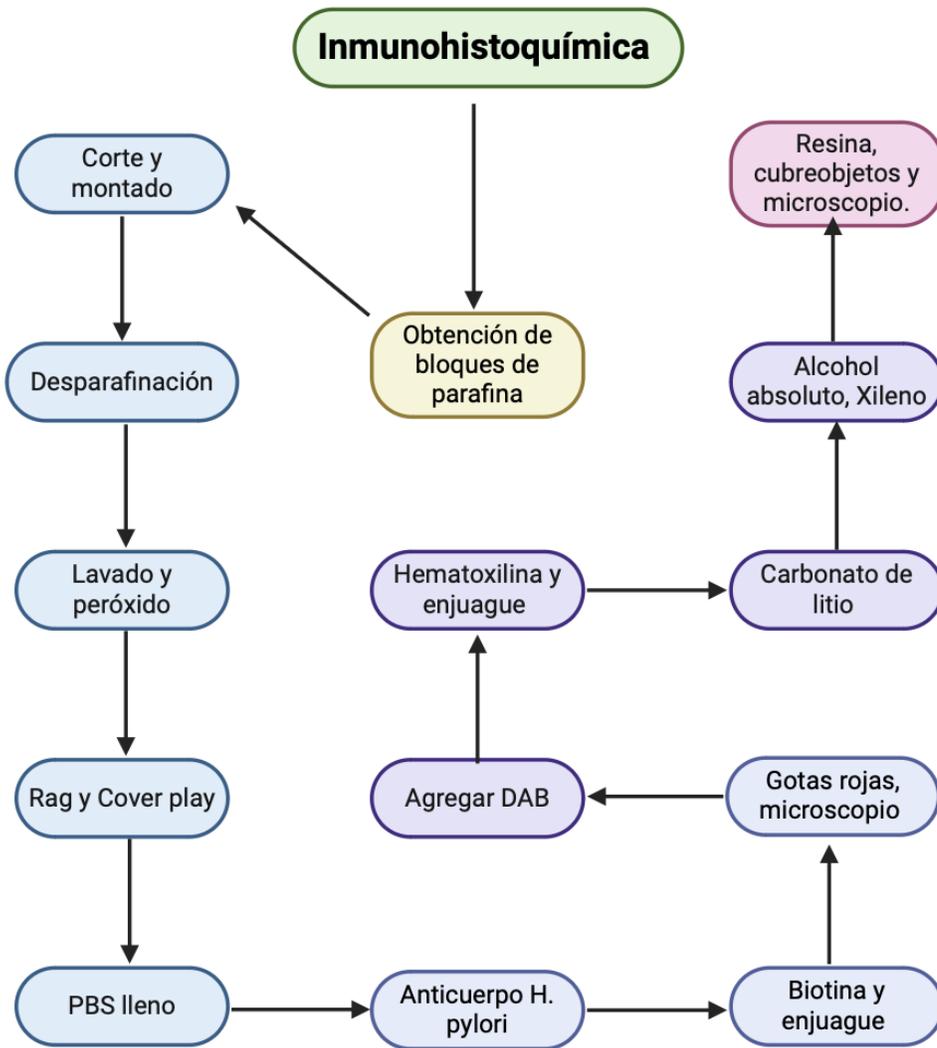


Diagrama 3. Diagrama de inmunohistoquímica contra *H. Pylori*.

Reactivos utilizados en la inmunohistoquímica

***Anticuerpo primario Clona:** EP279, R Mab, conejo monoclonal. **Marca:** BIOCARE MEDICAL

***Concentración:** 1:50-1:200.

***Biotina** (gotas amarillas): Diva Decloaker 20x. BIOCARE MEDICAL.

***Anticuerpo secundario** (gotas rojas): Avidin-HRP Label. BIOCARE MEDICAL.

CAPÍTULO 4.

RESULTADOS

La distribución de las 109 pulpas examinadas varió en cada una de las 18 laminillas, presentando una variabilidad en el número de pulpas que osciló entre 3 como mínimo y 14 como máximo en cada laminilla. Cada pulpa fue clasificada de acuerdo con los resultados de la inmunohistoquímica en positivas, negativas y no valorables. Como resultado, se identificaron 92 pulpas positivas, 14 pulpas negativas y 3 pulpas no valorables (Tabla 2).

Laminilla	Pulpas (+)	Pulpas (-)	Pulpas no valorables	Total, Pulpas
1	2	0	1	3
2	3	1	1	5
3	5	0	0	5
4	6	0	0	6
5	3	1	0	4
6	2	2	0	4
7	2	0	0	2
8	4	0	0	4
9	4	0	0	4
10	9	0	0	9
11	2	1	0	3
12	7	0	0	7
13	6	0	0	6
14	11	3	0	14
15	5	3	0	8
16	6	0	0	6
17	7	2	0	9
18	8	1	1	10
Totales	92	14	3	109

Tabla 2. Conteo total de laminillas y pulpas analizadas.

Los resultados obtenidos tras la realización de la IHQ contra *H. pylori* muestran una distribución significativa en las muestras analizadas. El análisis global de estas muestras revela que la mayoría de las pulpas dentales presentaron una reacción positiva frente a la presencia de *H. pylori*.

Específicamente de las 109 pulpas analizadas, se observa que un total de 92 muestras de pulpas dentales resultaron positivas al examen, lo que constituye un notable porcentaje del 84.40% con respecto al total de las muestras sometidas al análisis. Por otro lado, se identificaron 14 muestras que arrojaron resultados negativos, representando un 12.84% del conjunto total de muestras

analizadas. Además, se detectaron 3 casos en los que las muestras no pudieron ser valoradas, lo que equivale a un 2.75% del total (Gráfico 1).

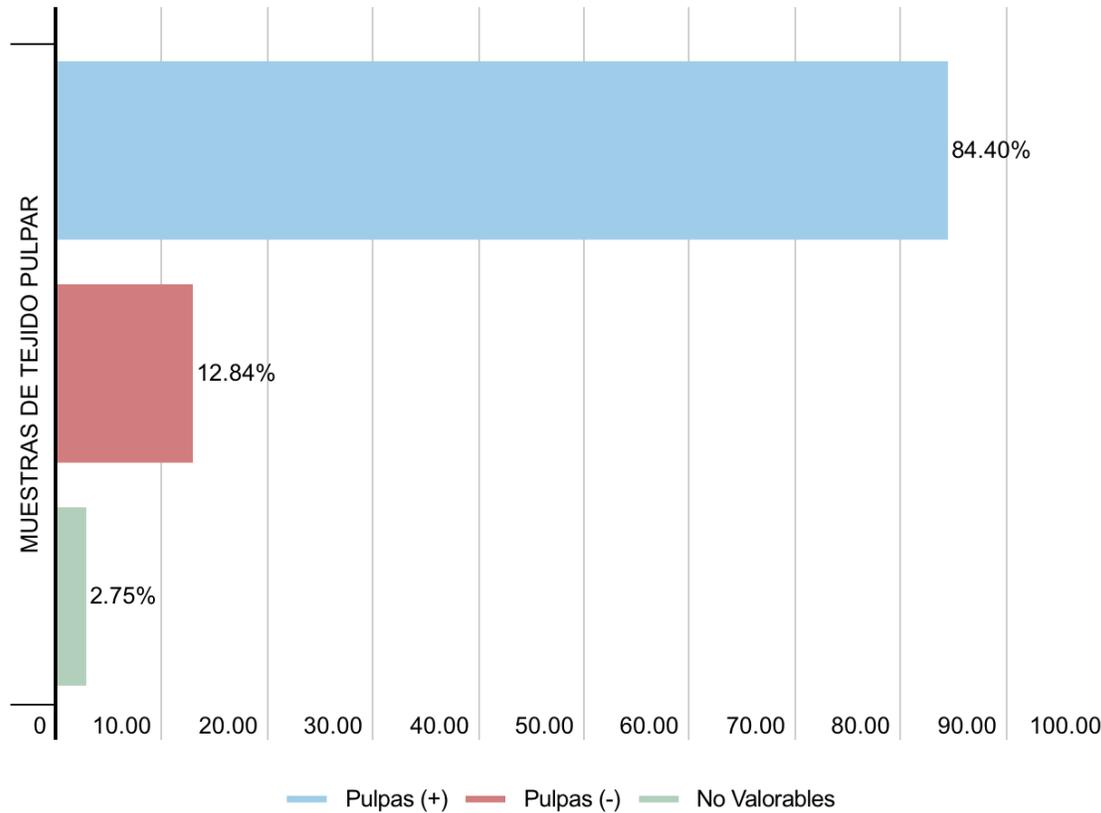
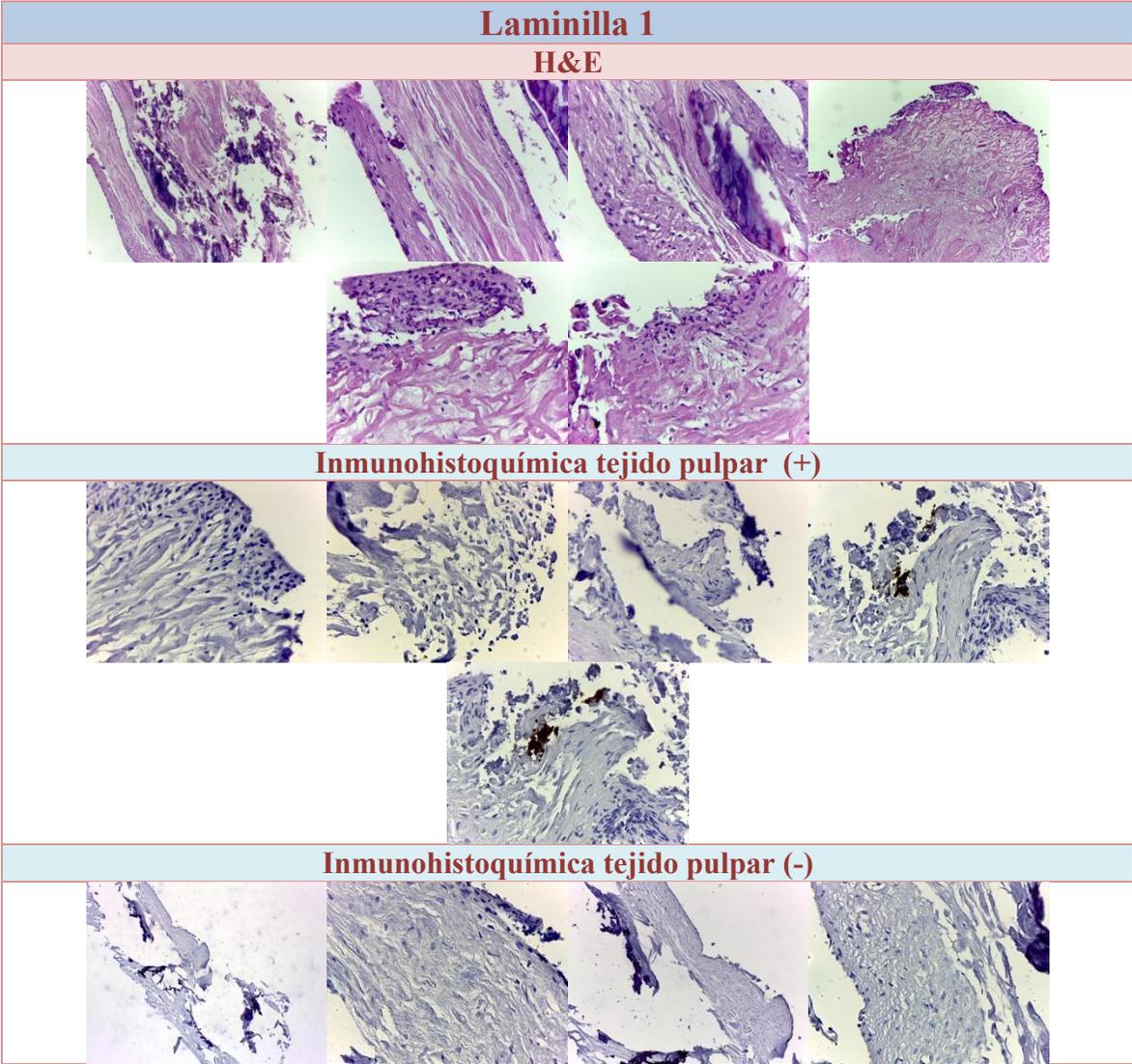


Gráfico 1. Resultado final en porcentaje de las pulpas evaluadas.

Es importante resaltar que el resultado positivo predominó significativamente con un porcentaje mayor, mostrando una diferencia de aproximadamente el 70% con respecto a las pulpas negativas. Este hallazgo subraya la prevalencia de condiciones positivas en las pulpas dentales analizadas en comparación con las negativas, evidenciando una tendencia clara hacia la presencia de características positivas en la muestra estudiada.

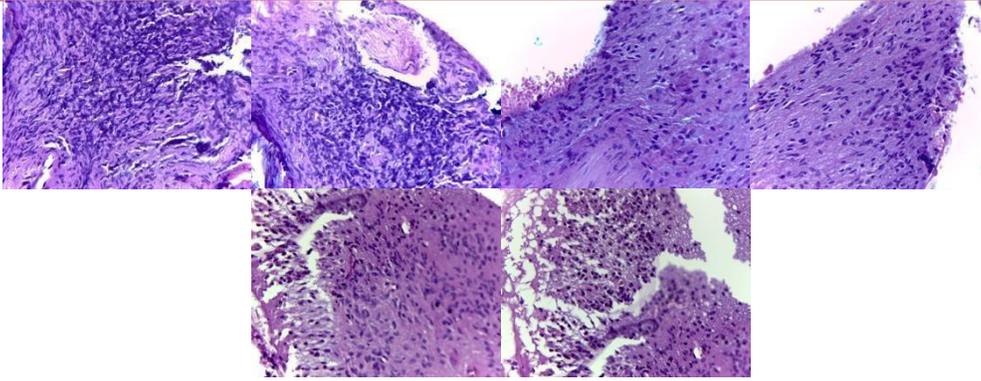
De las 18 laminillas examinadas y sometidas a la prueba de hematoxilina y eosina, se generaron alrededor de 330 imágenes histológicas. Estas imágenes fueron capturadas utilizando aumentos de lentes de 4x, 10x y 40x en el microscopio. Además, mediante la técnica de inmunohistoquímica, se obtuvieron un total de 680 imágenes histológicas, utilizando los mismos aumentos de lentes en las 18 laminillas analizadas. En conjunto, se recolectaron aproximadamente 1010 imágenes.

Tablas de recolección total de imágenes histológicas

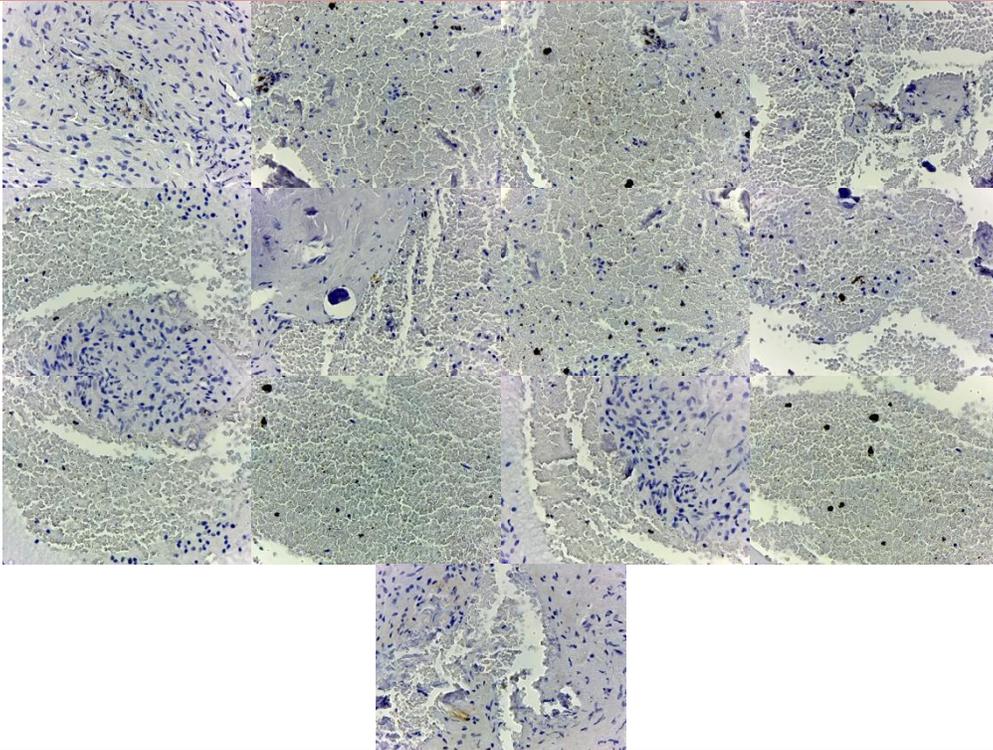


Laminilla 2

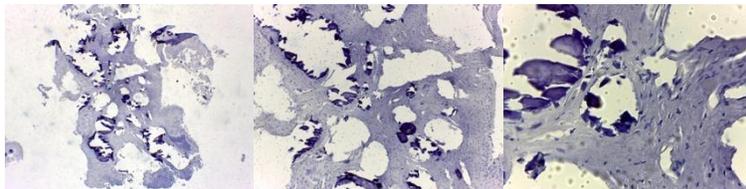
H&E



Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

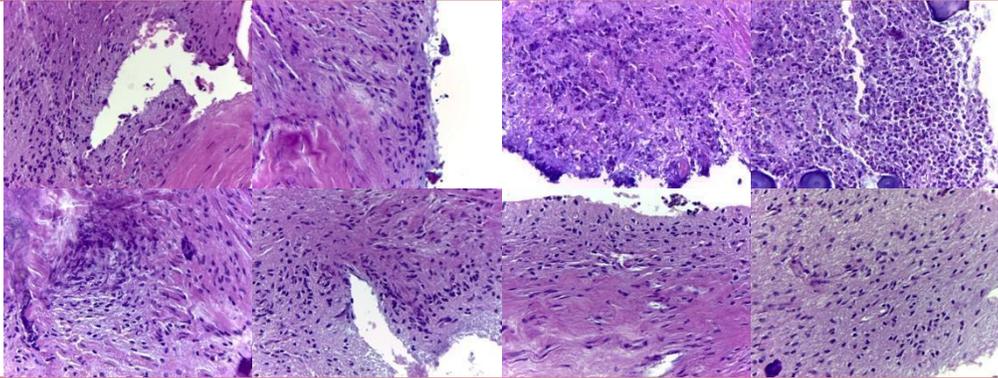


Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)

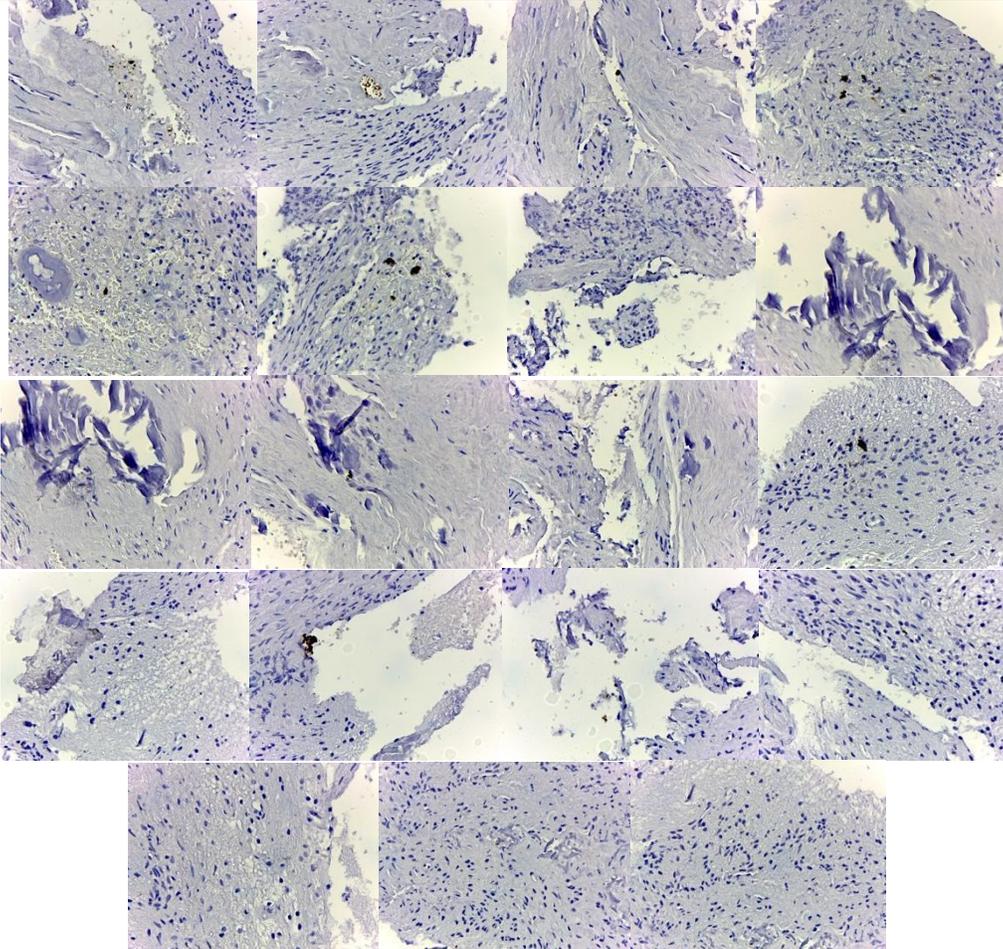


Laminilla 3

H&E

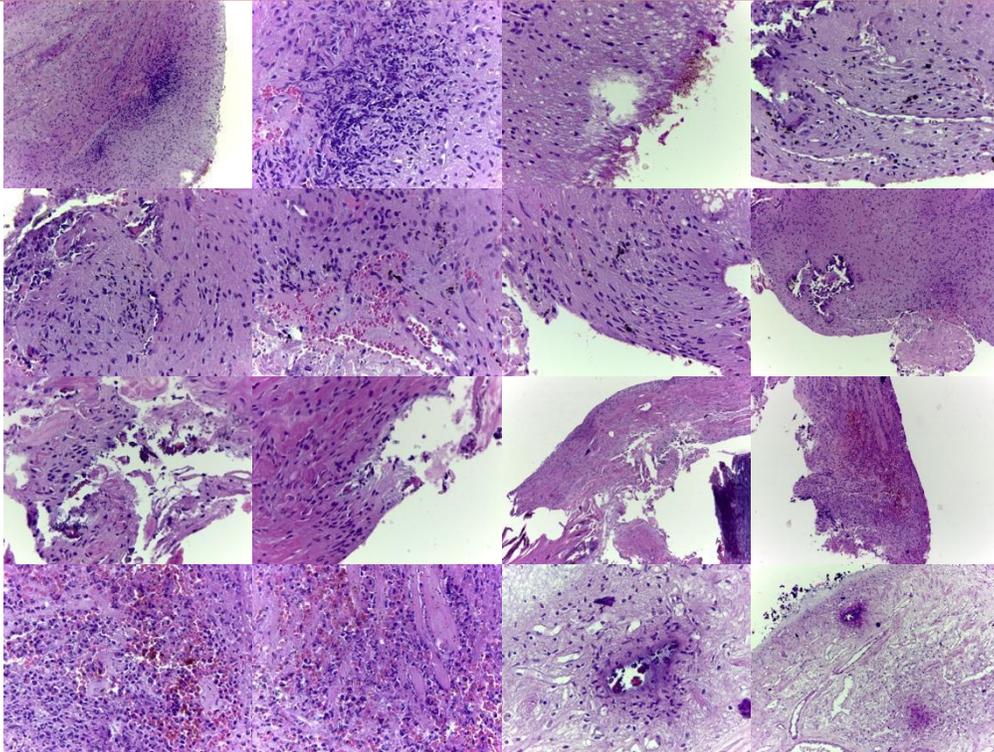


Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

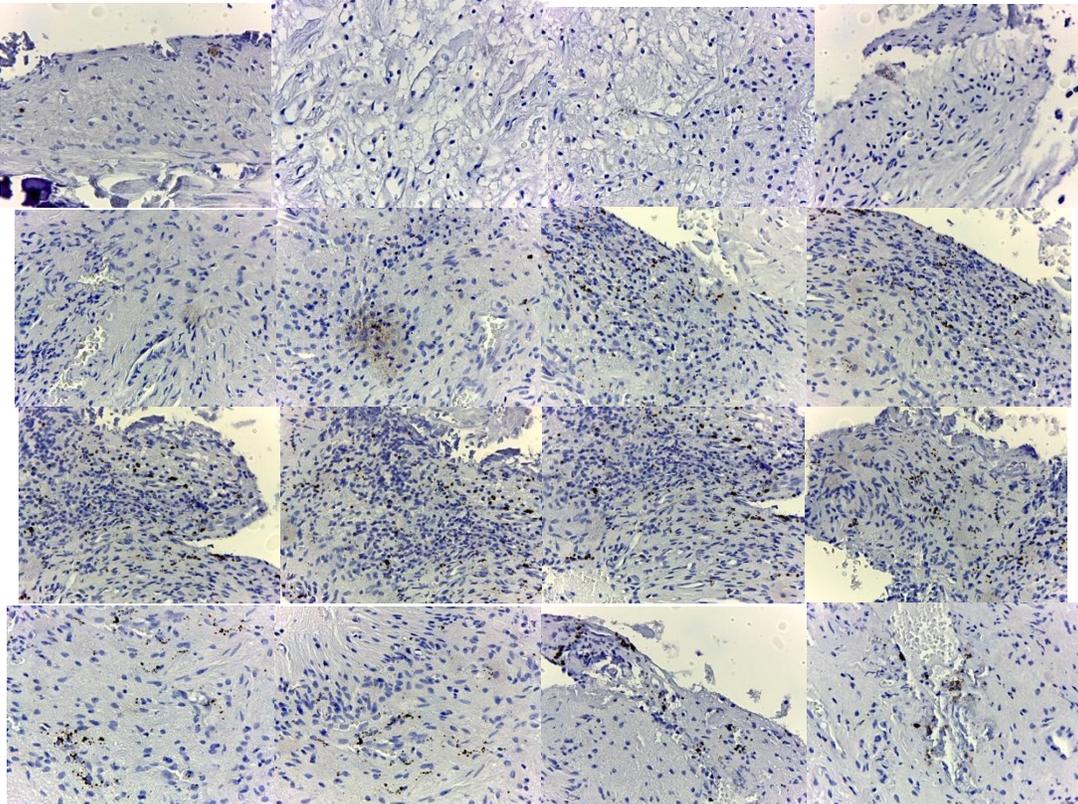


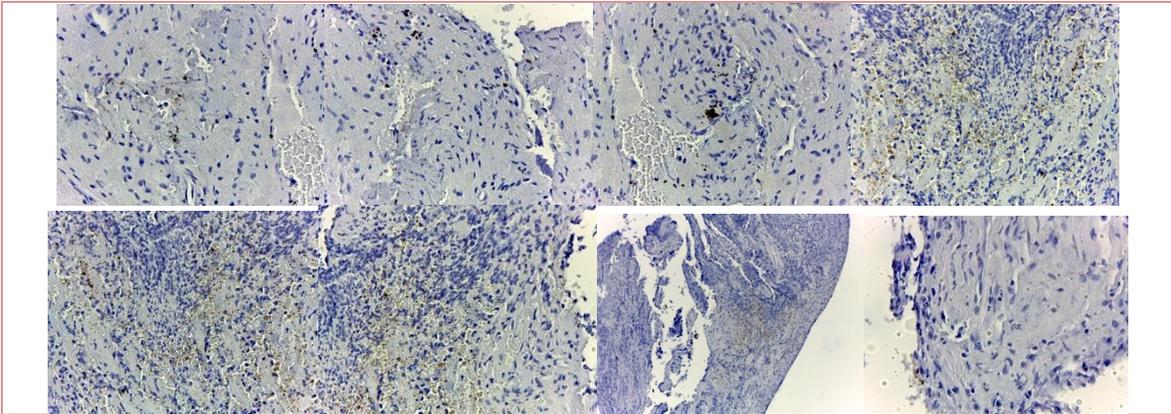
Laminilla 4

H&E



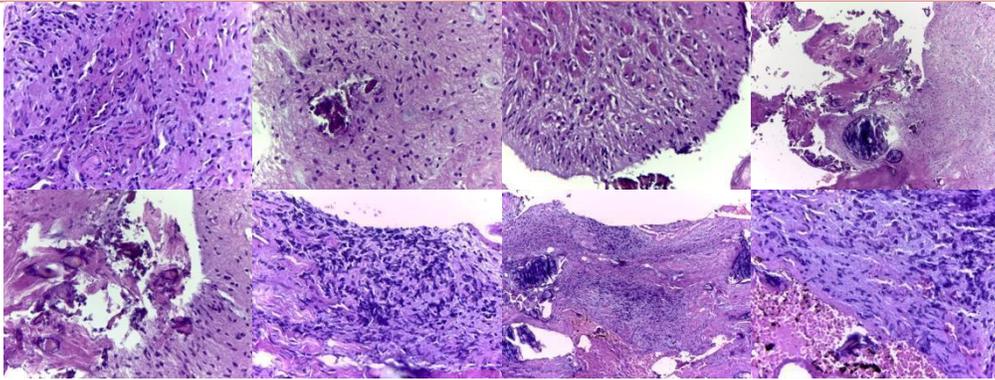
Immunohistoquímica tejido pulpar (+)



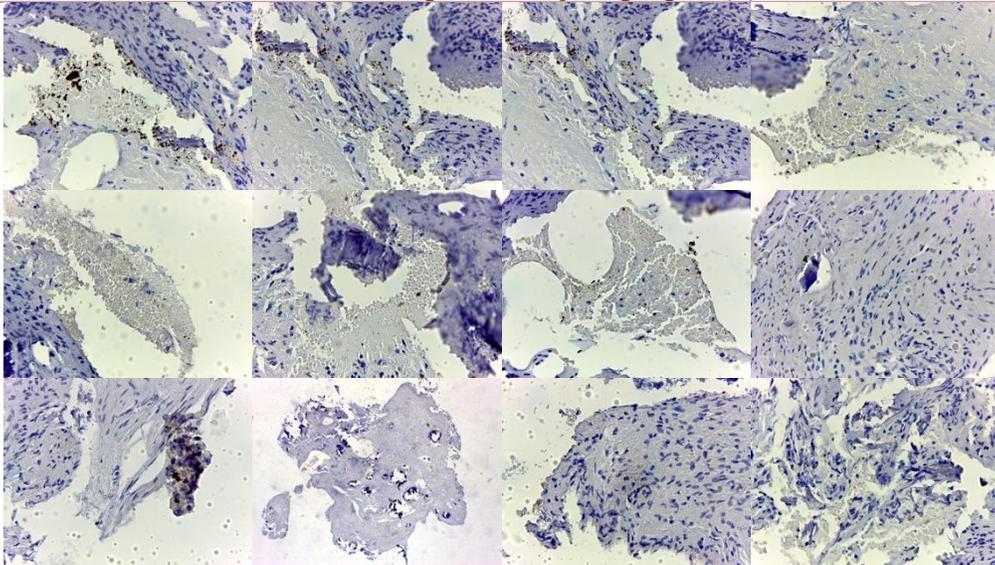


Laminilla 5

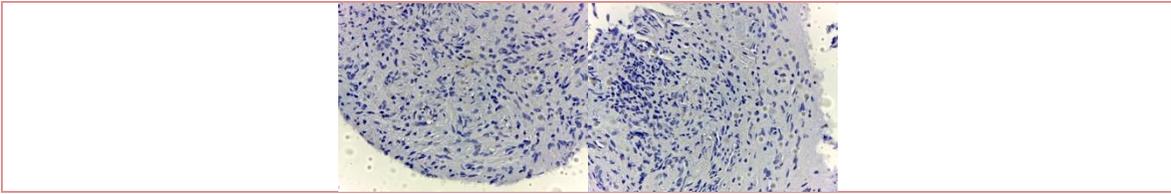
H&E



Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

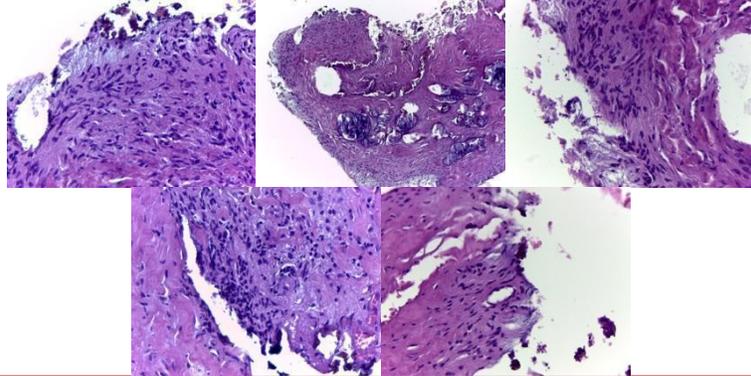


Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)

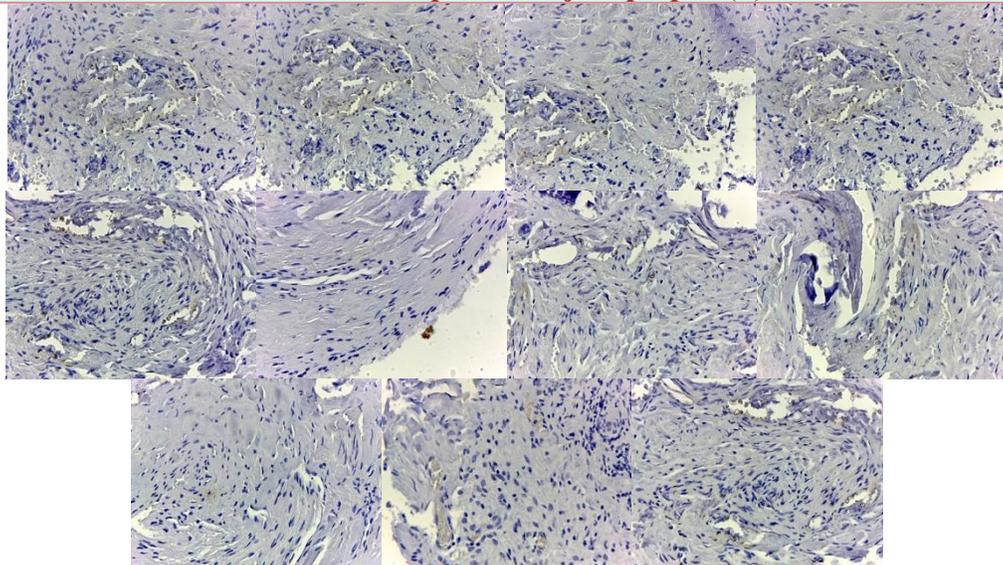


Laminilla 6

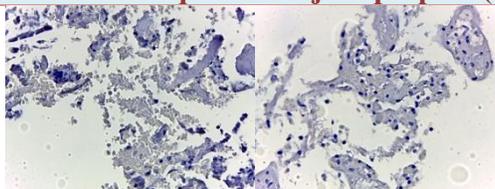
H&E



Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

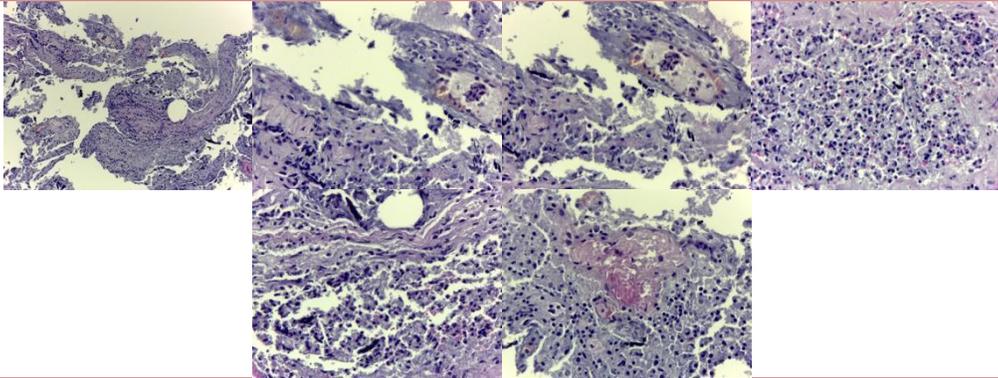


Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)

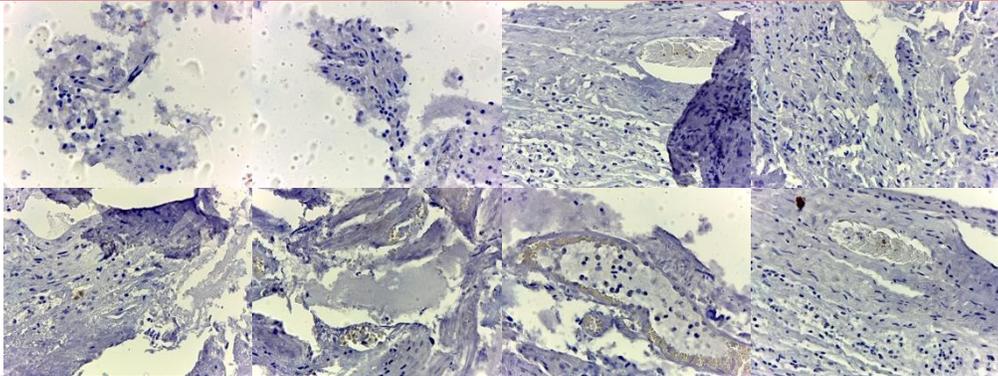


Laminilla 7

H&E

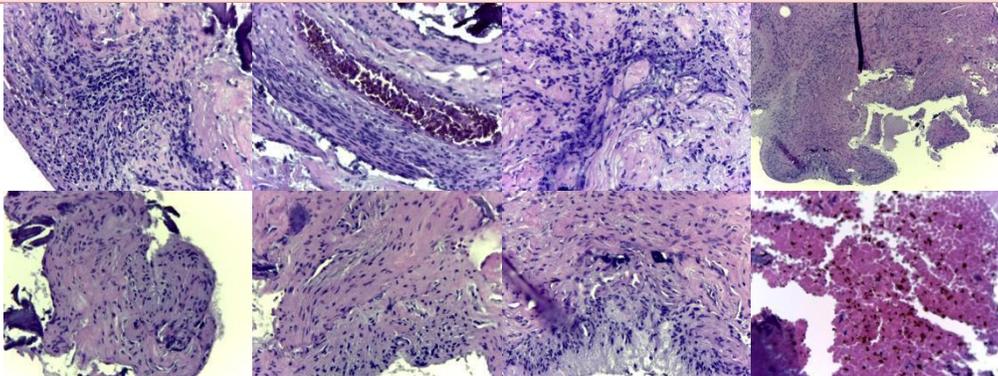


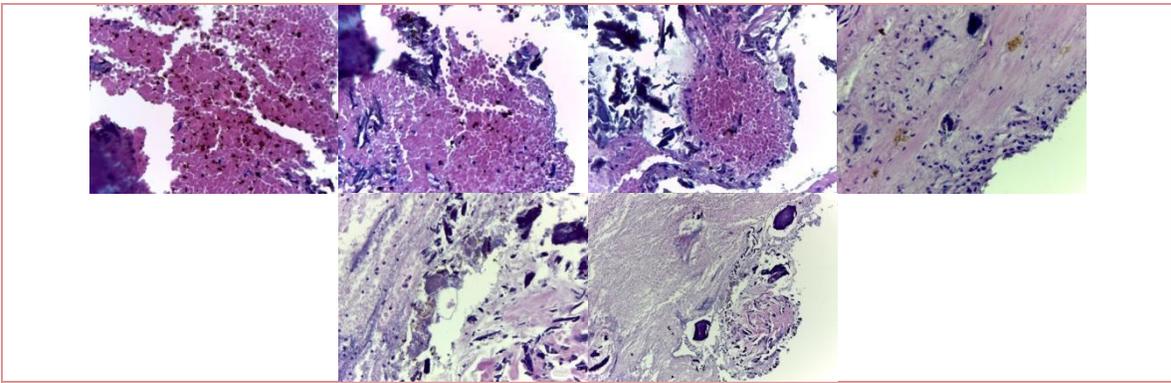
Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)



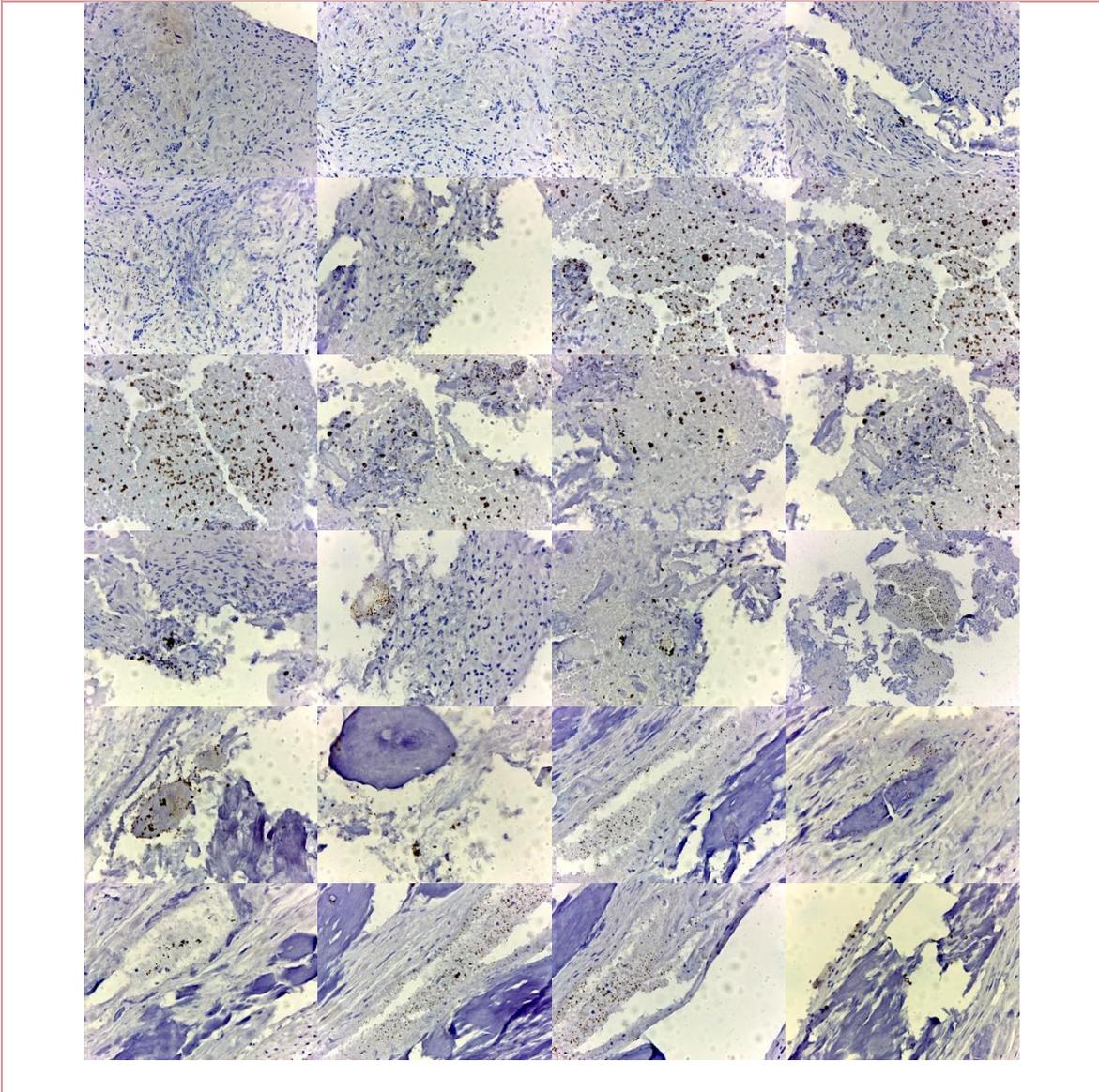
Laminilla 8

H&E



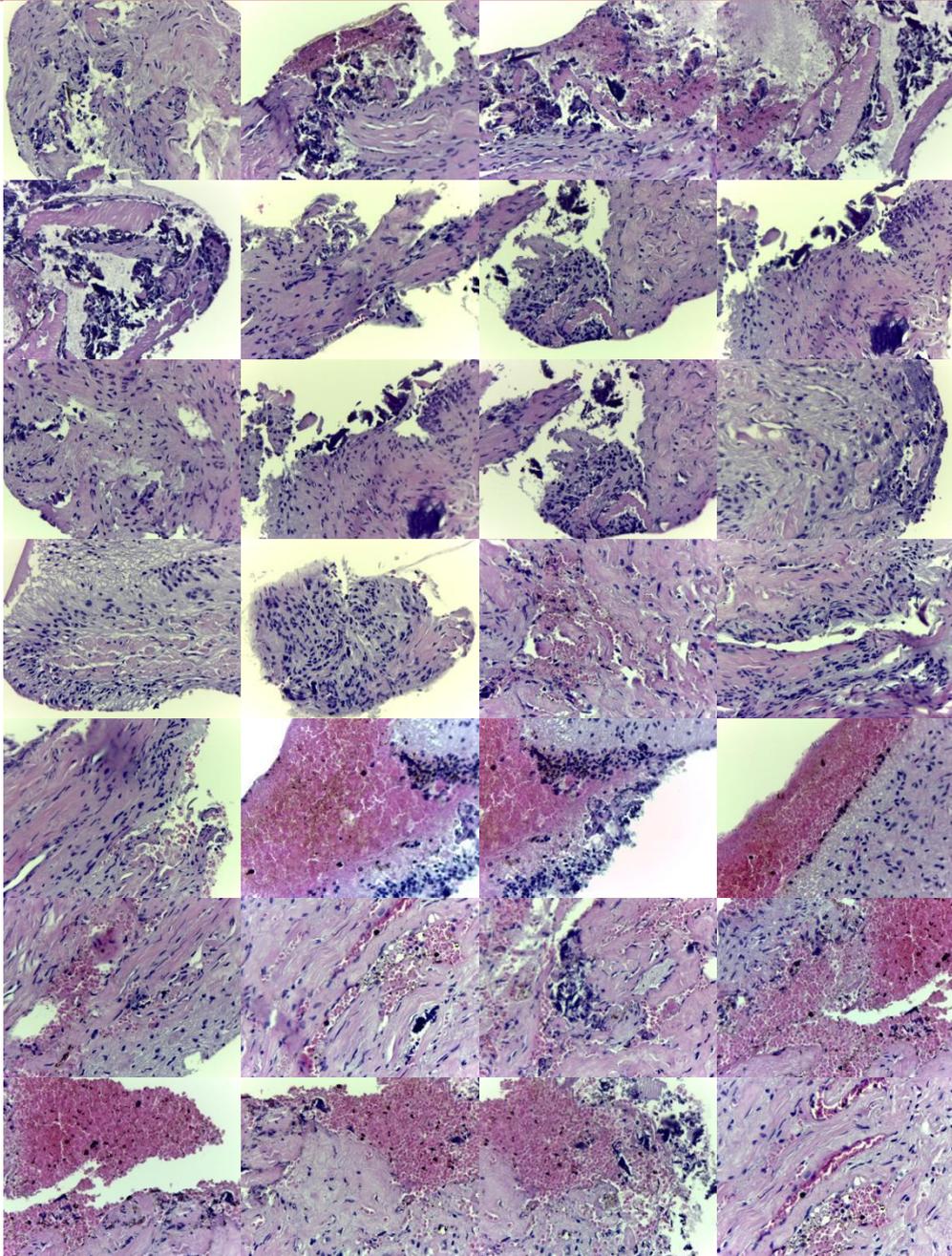


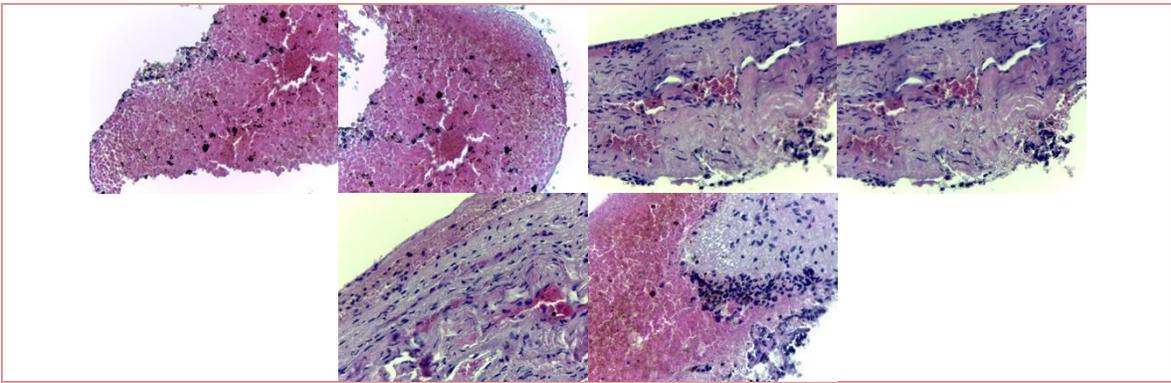
Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)



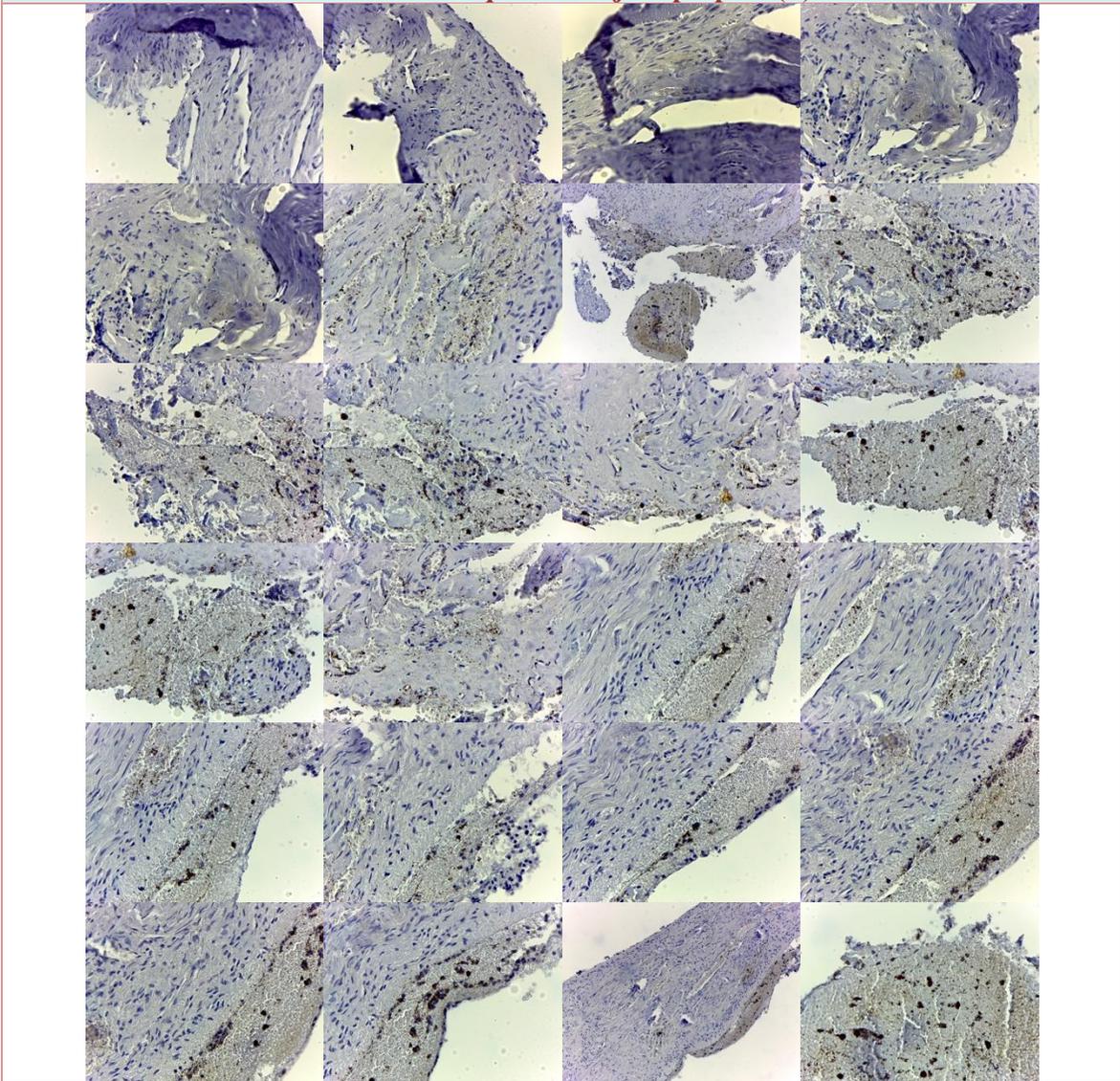
Laminilla 9

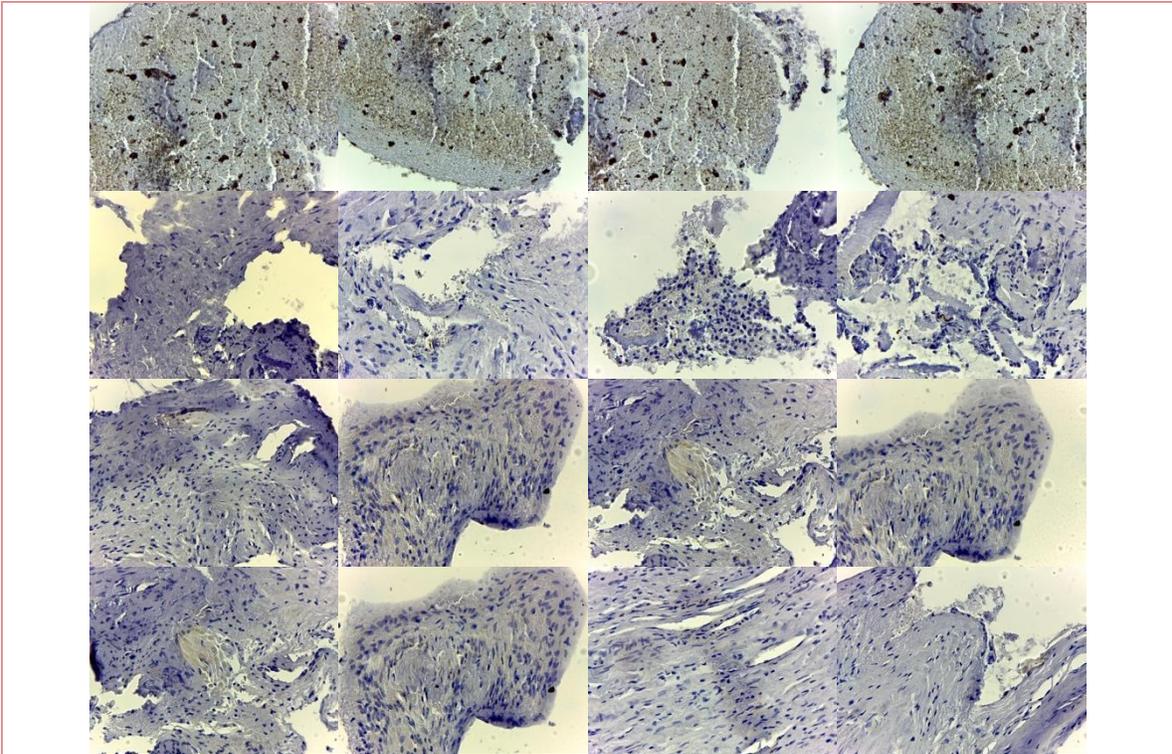
H&E





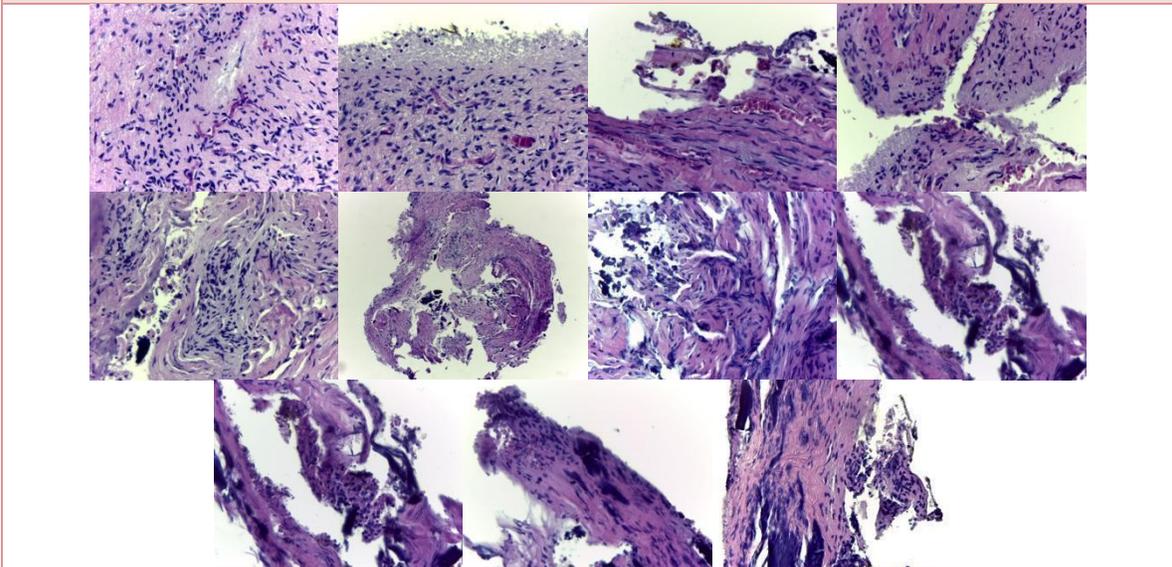
Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

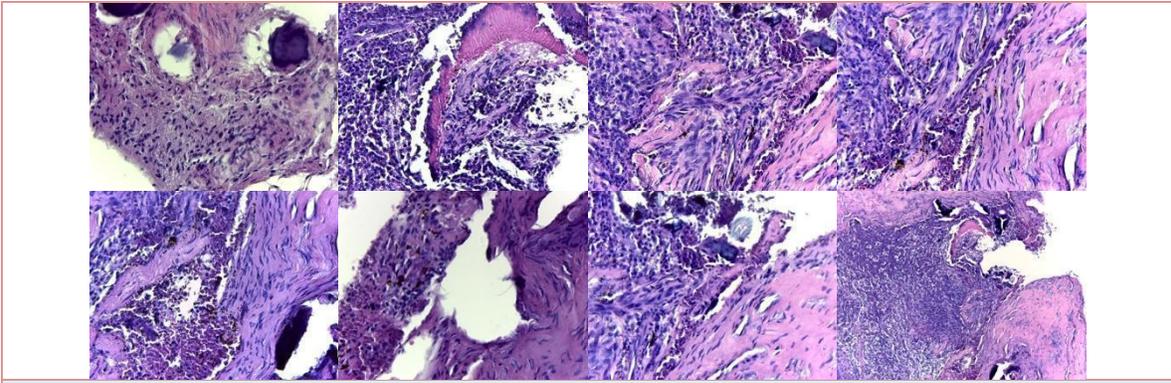




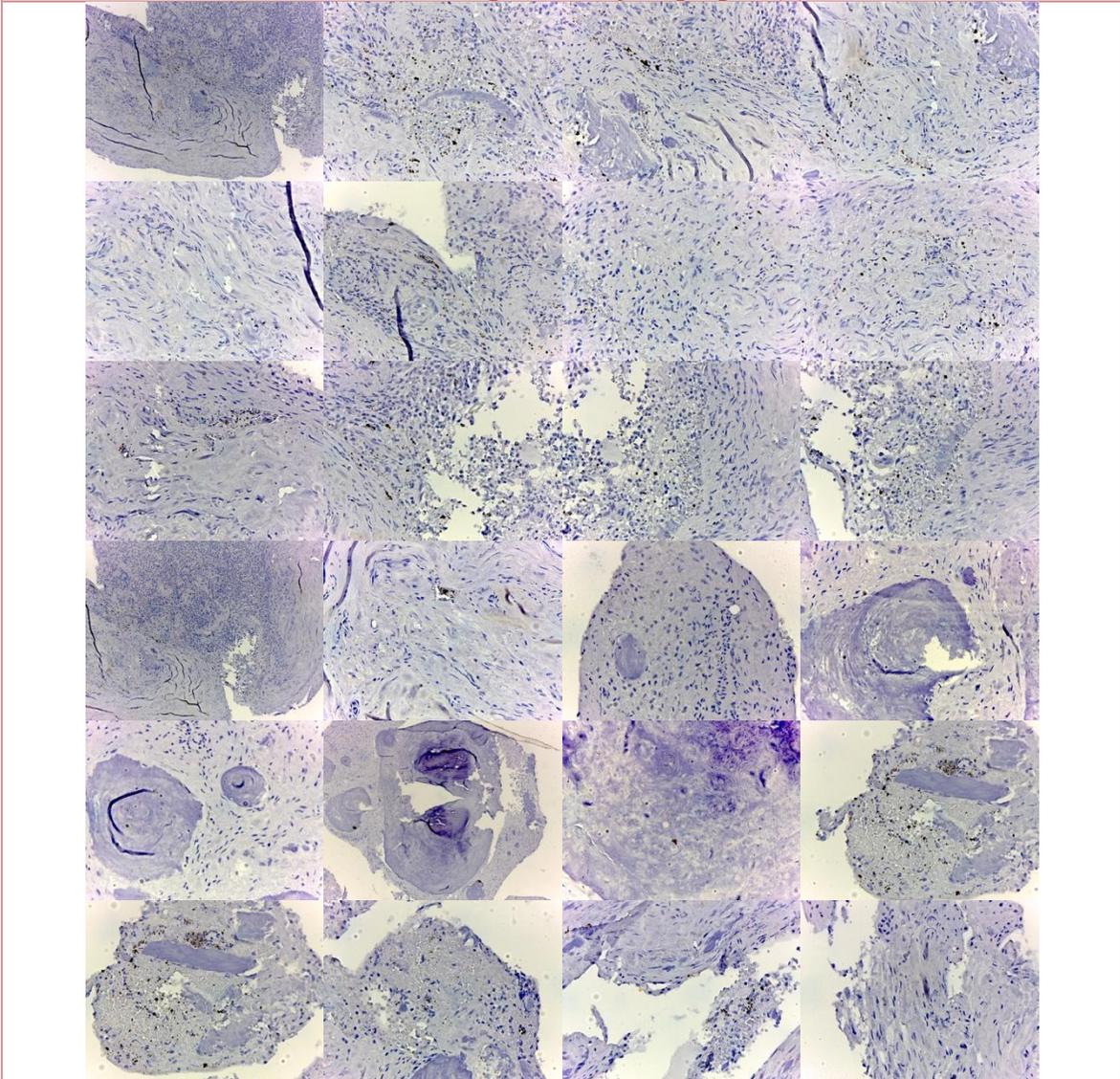
Laminilla 10

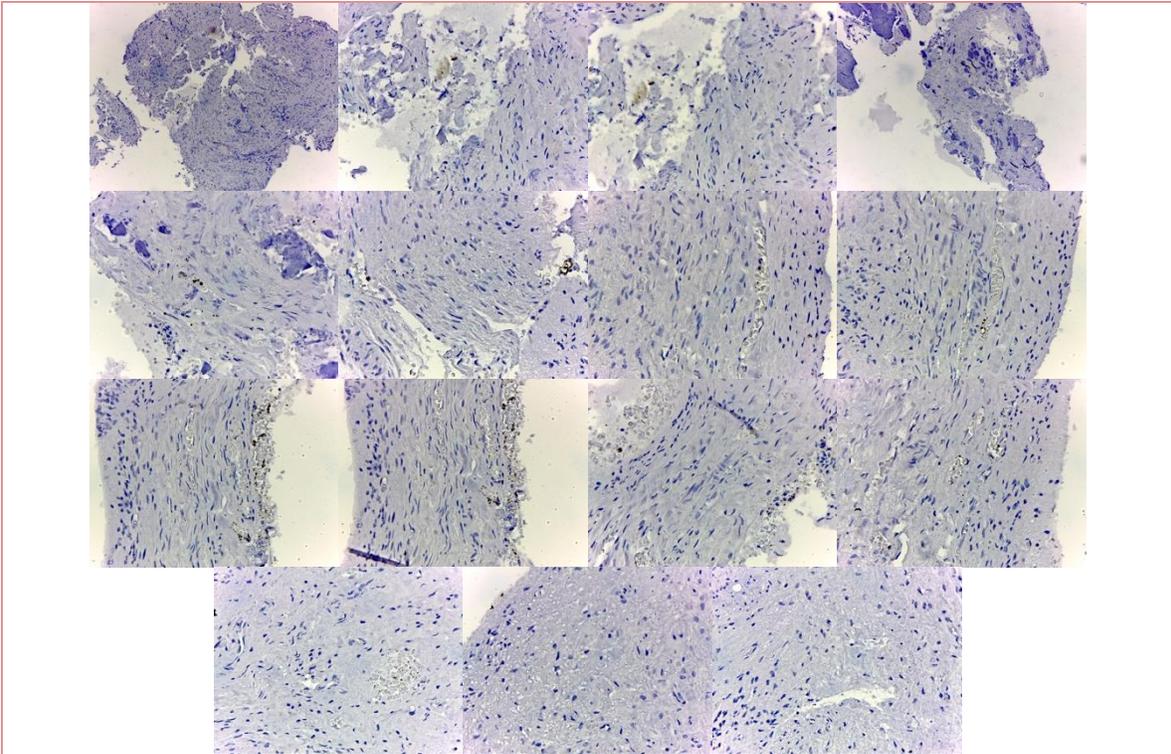
H&E





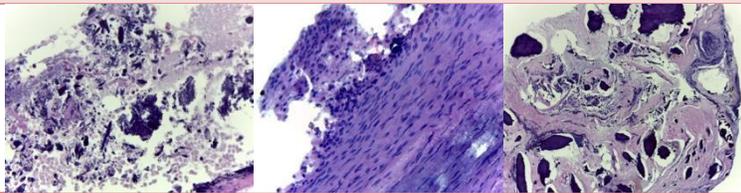
Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)



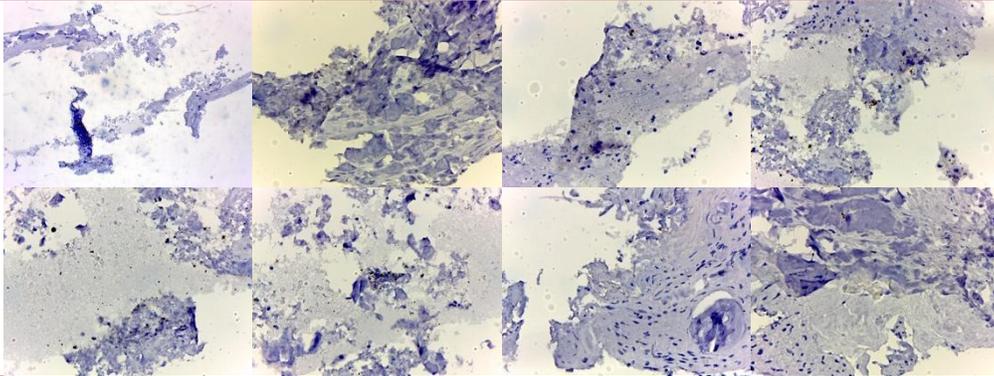


Laminilla 11

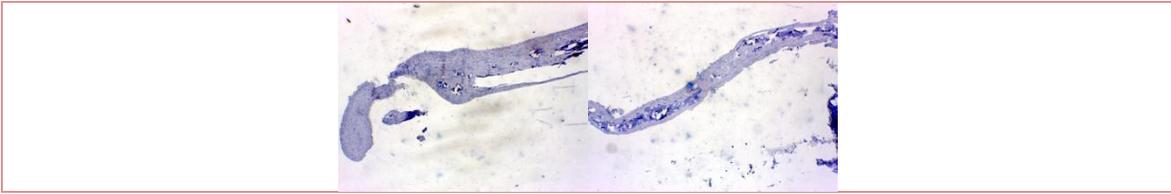
H&E



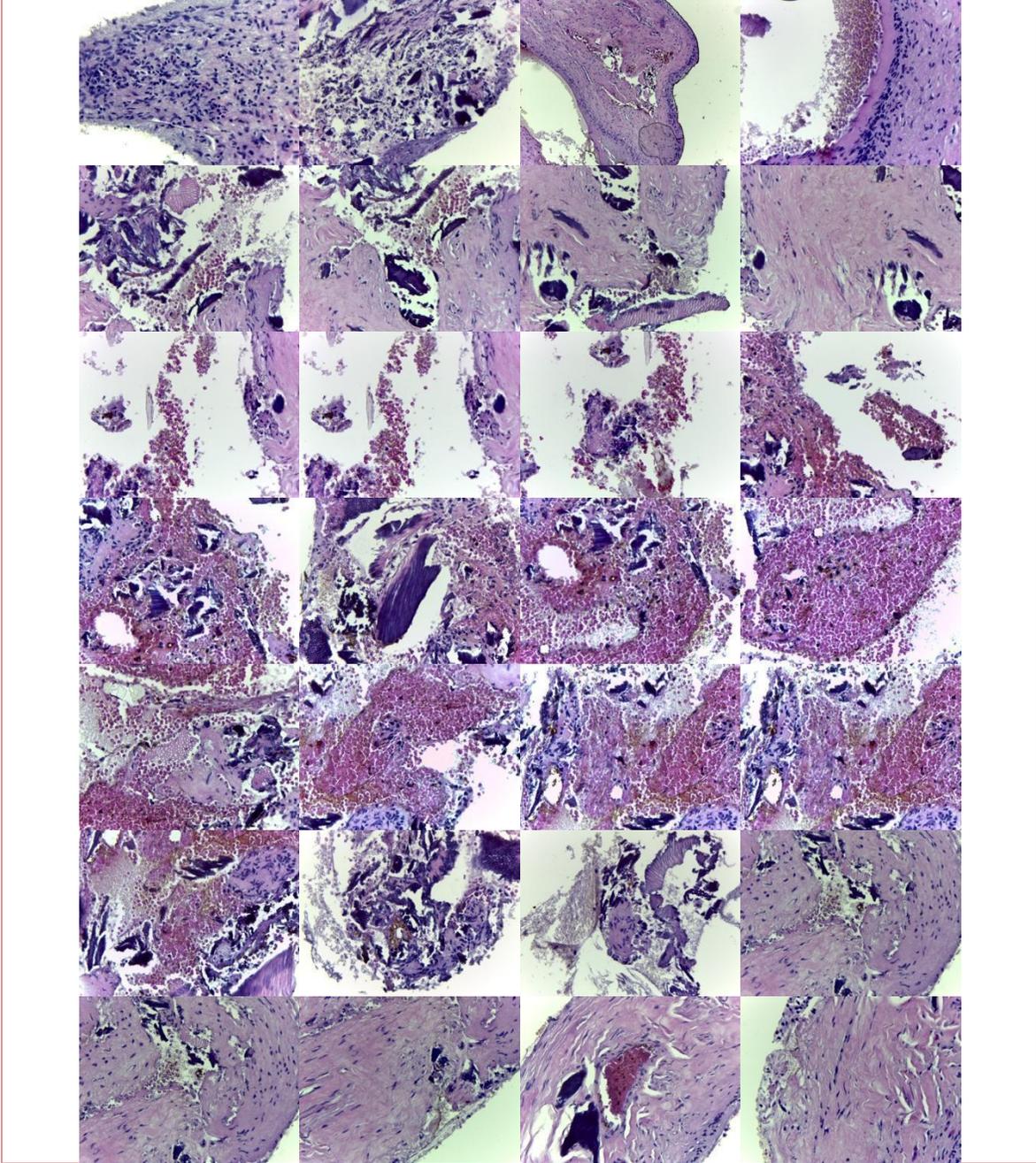
Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

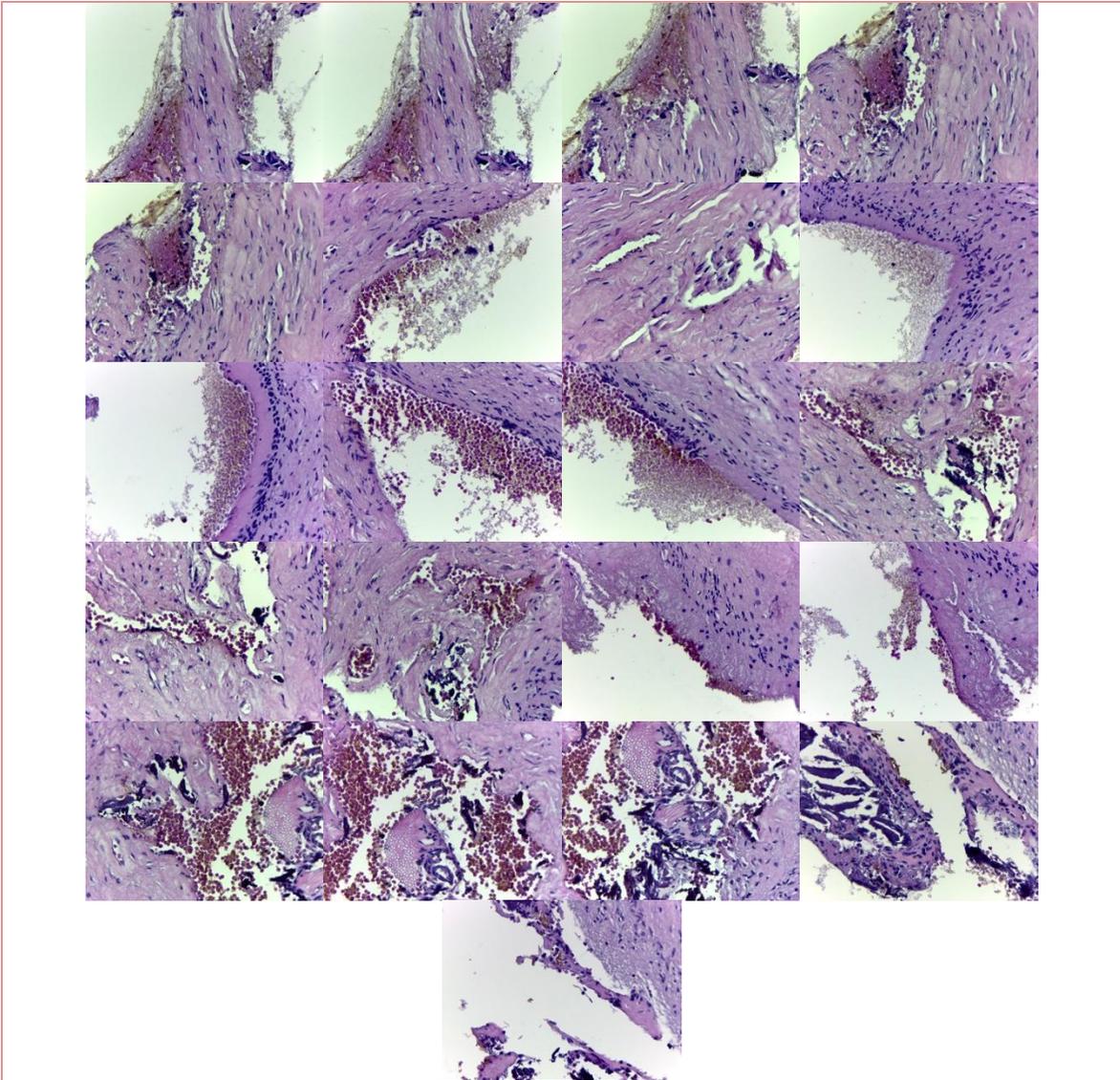


Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)

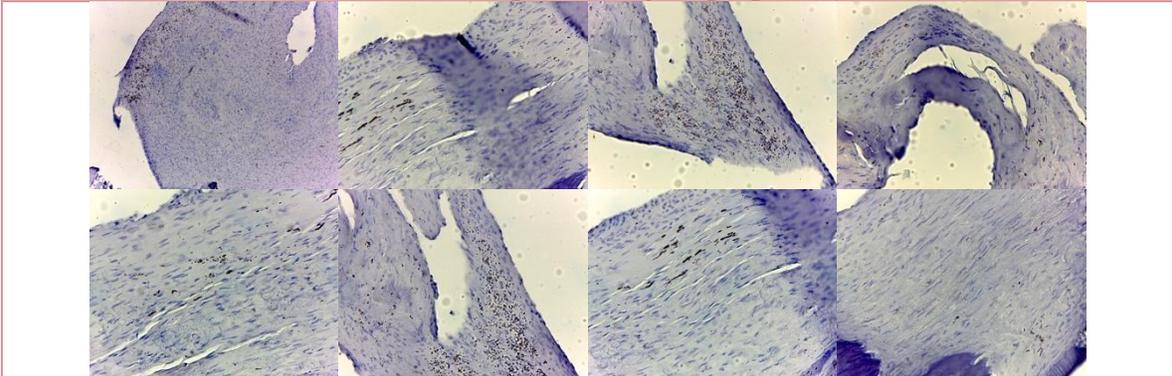


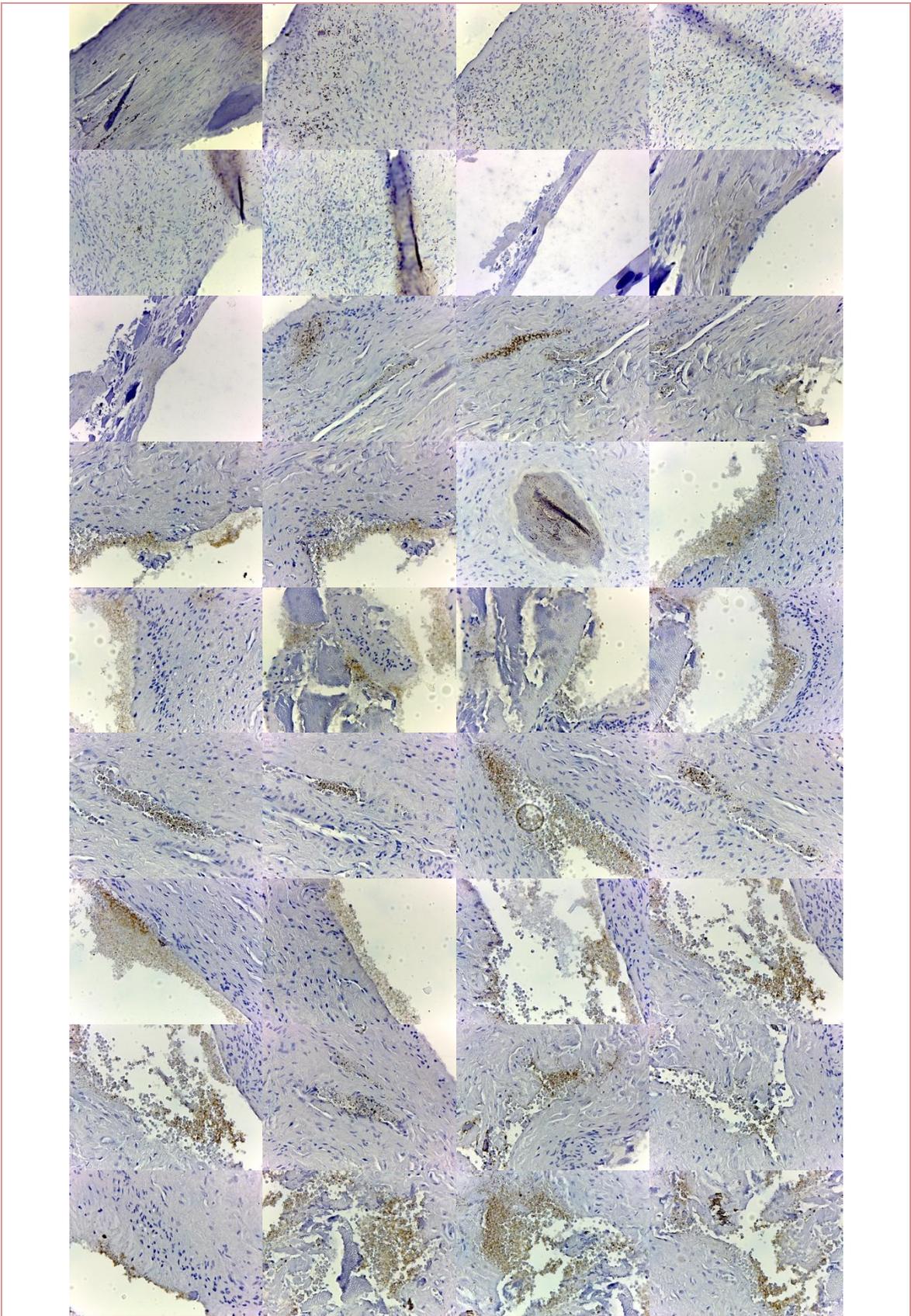
Laminilla 12
H&E

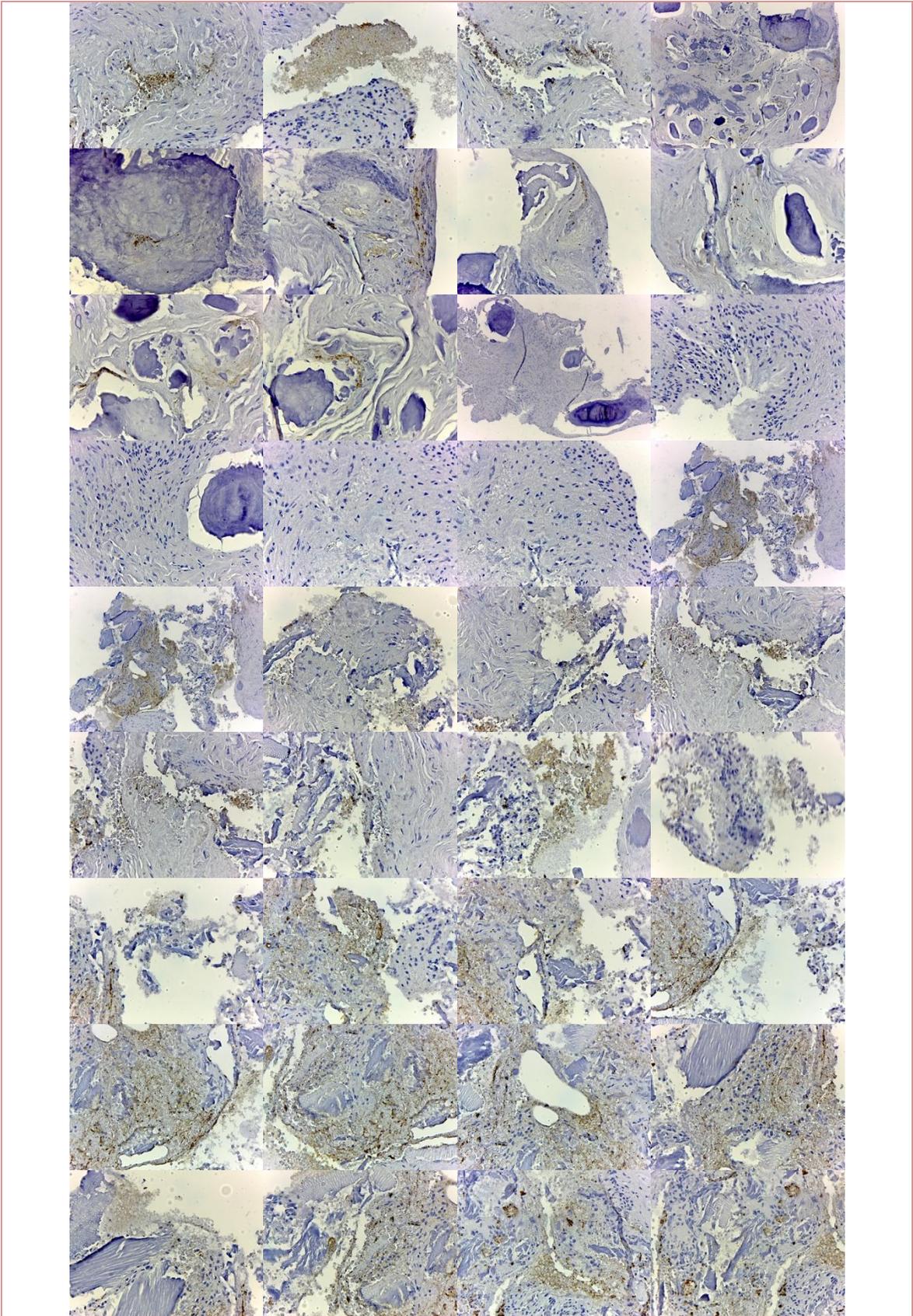


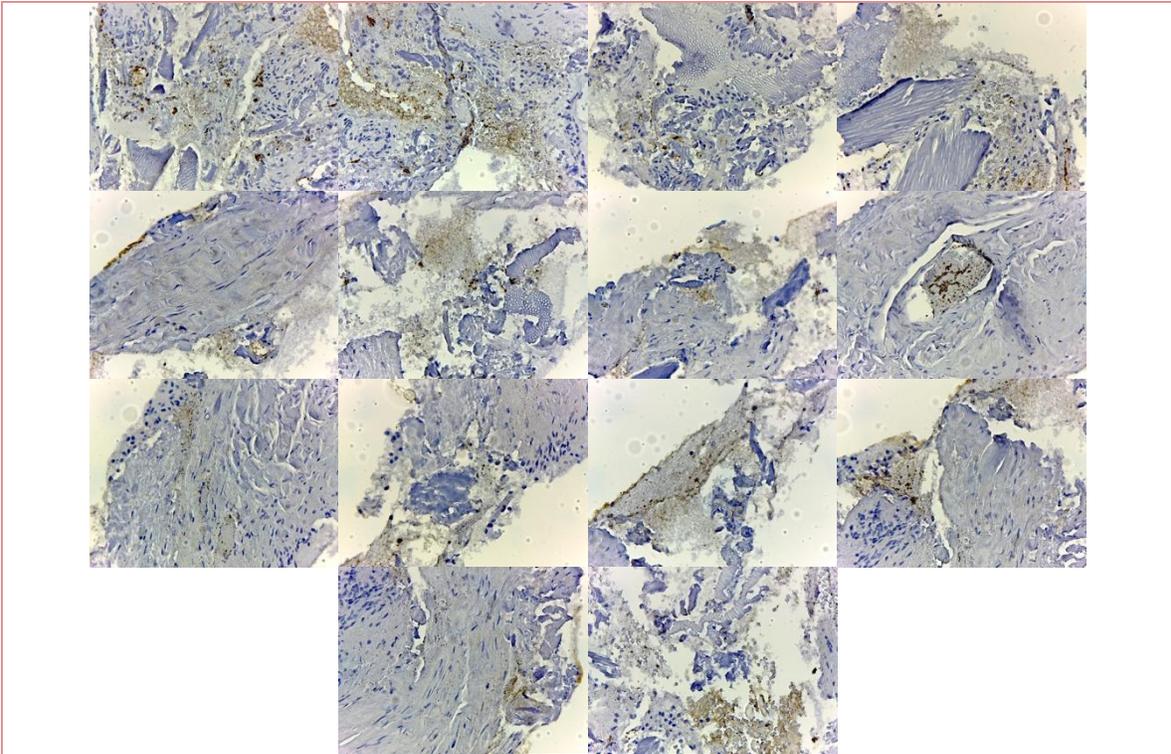


Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)



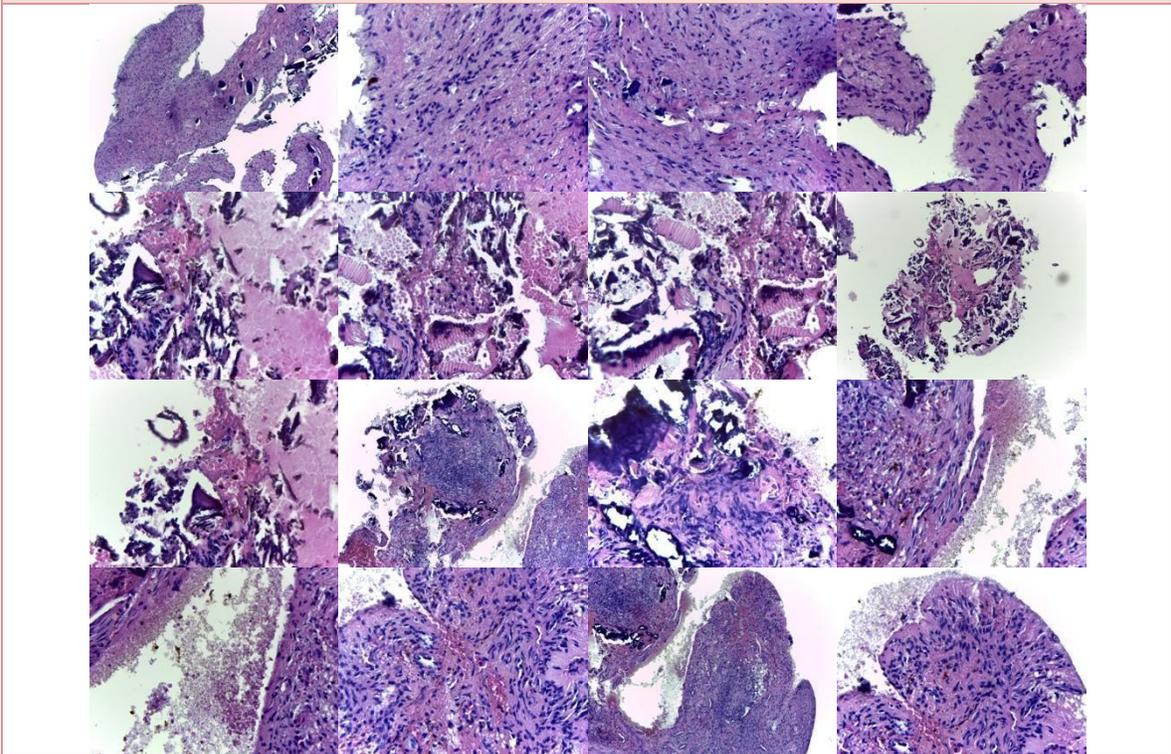


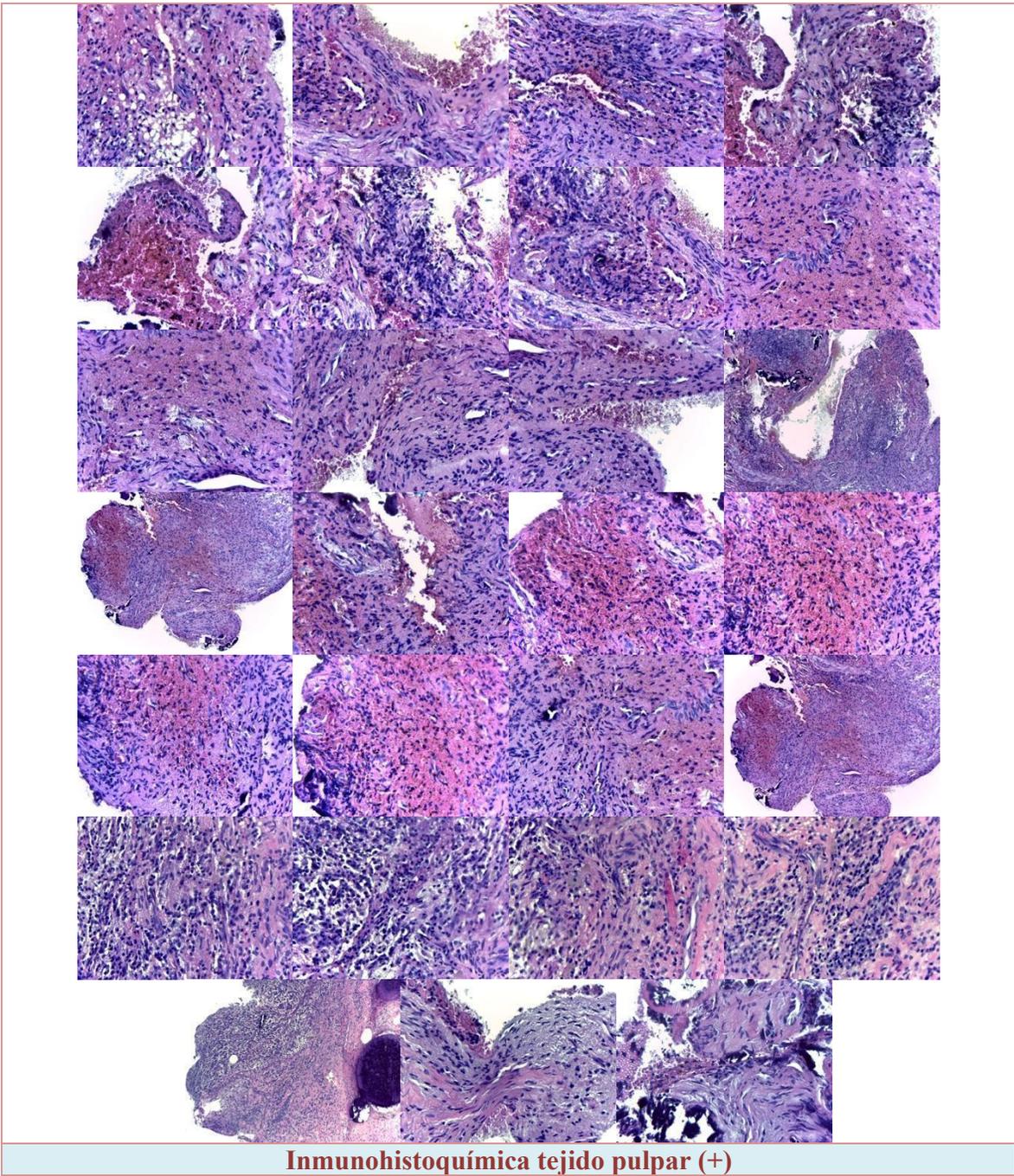


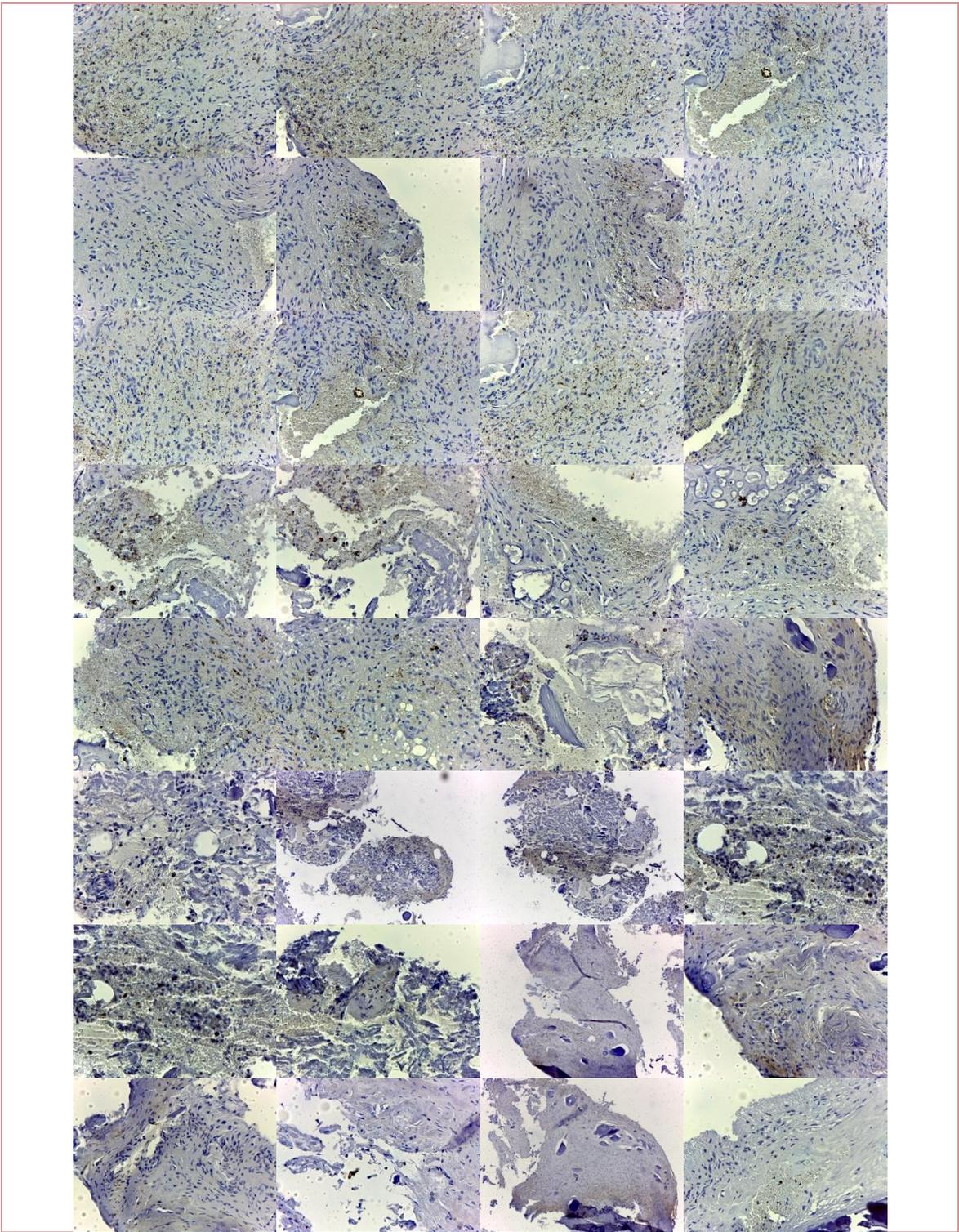


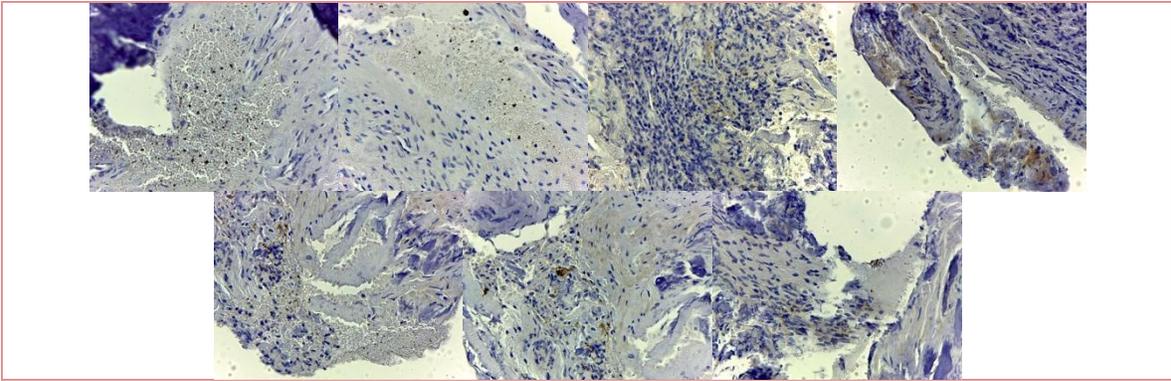
Laminilla 13

H&E

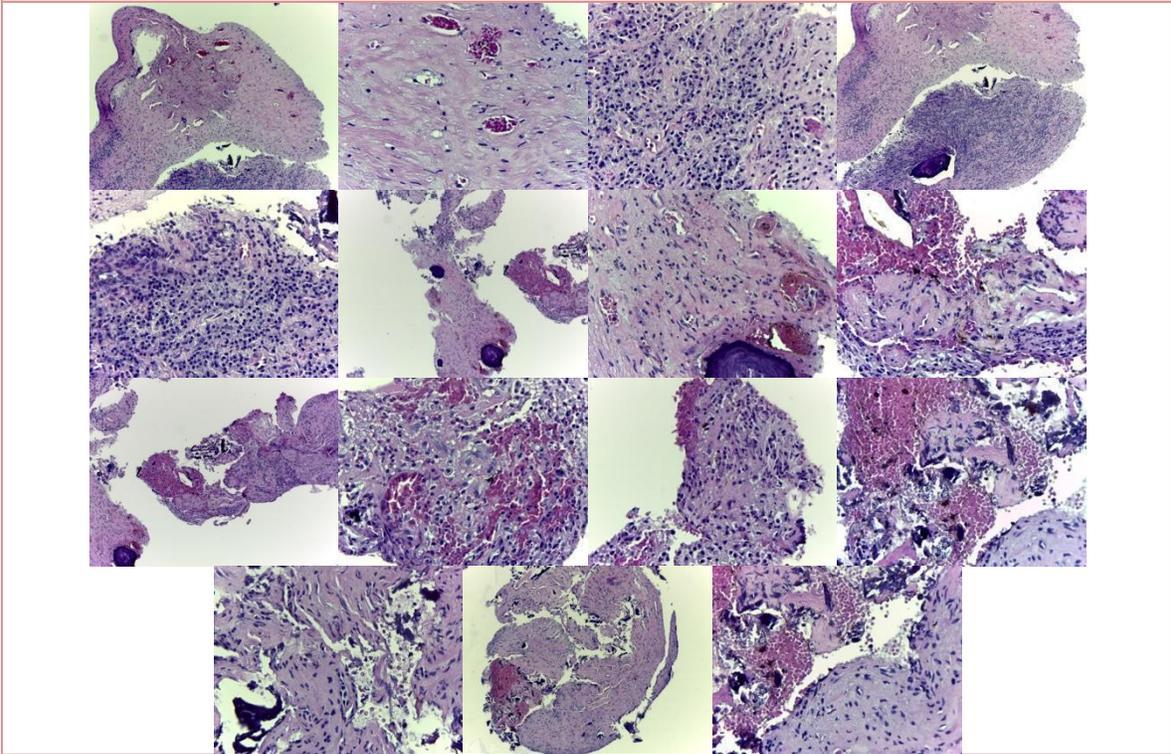




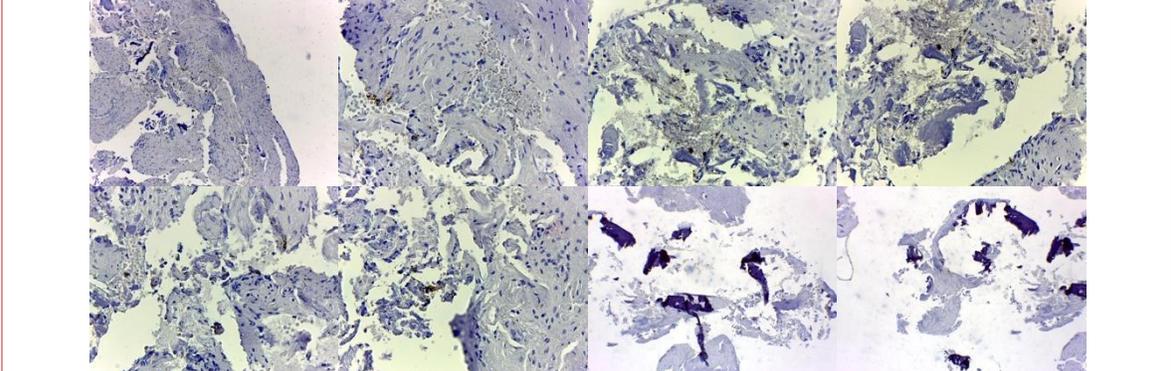


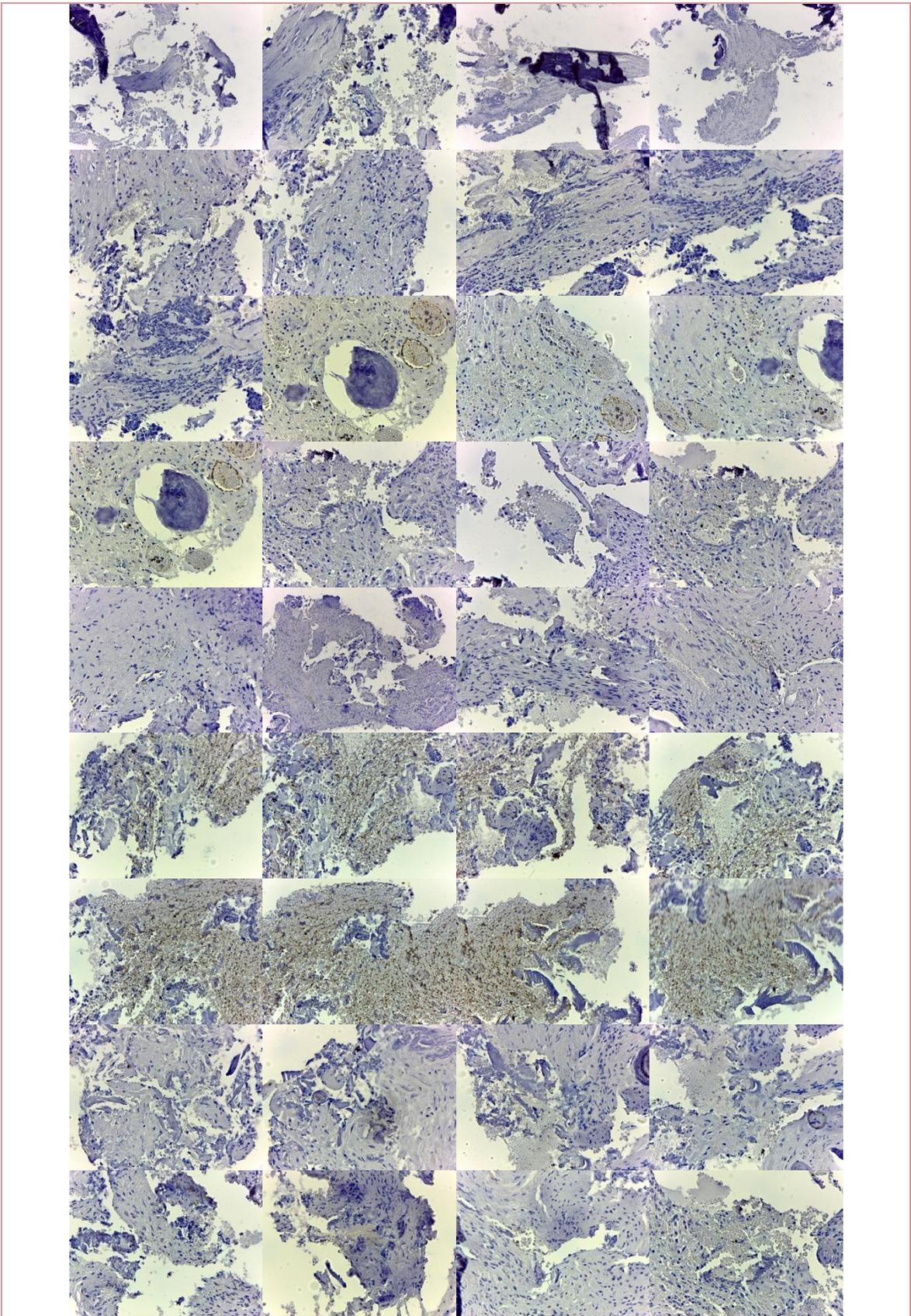


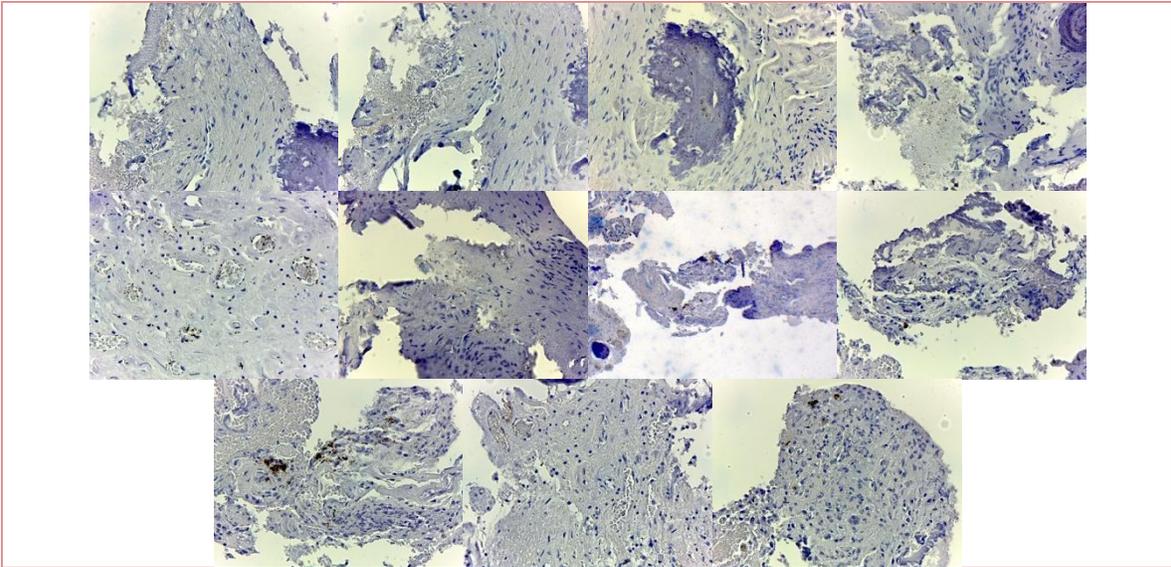
Laminilla 14
H&E



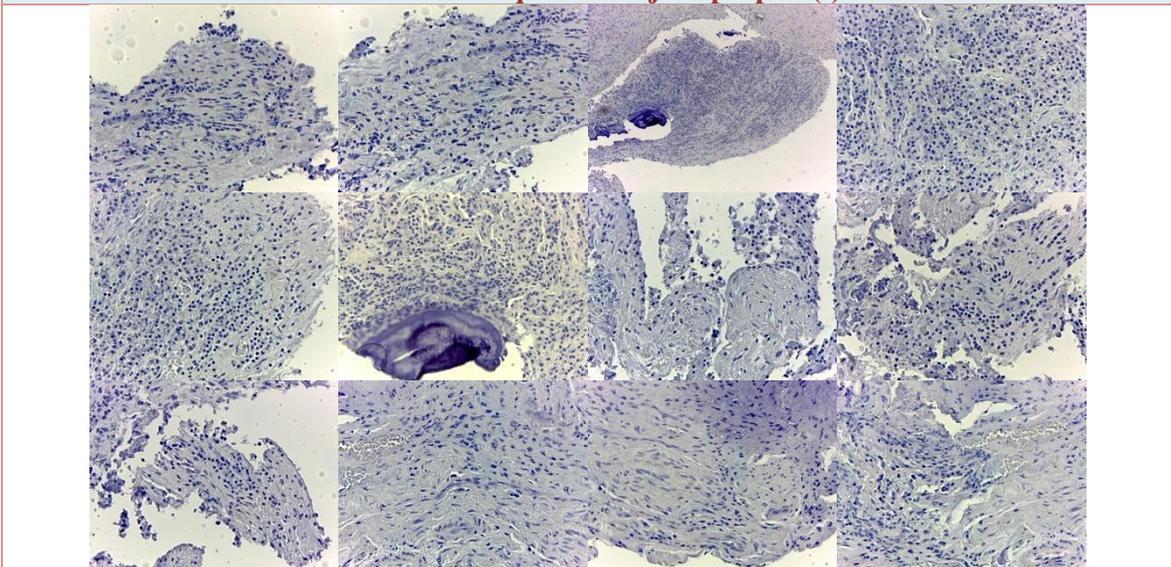
Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)





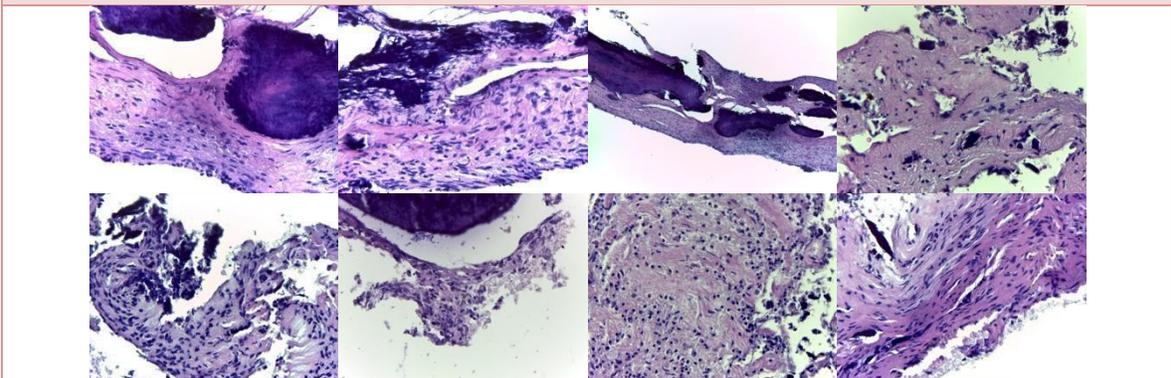


Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)

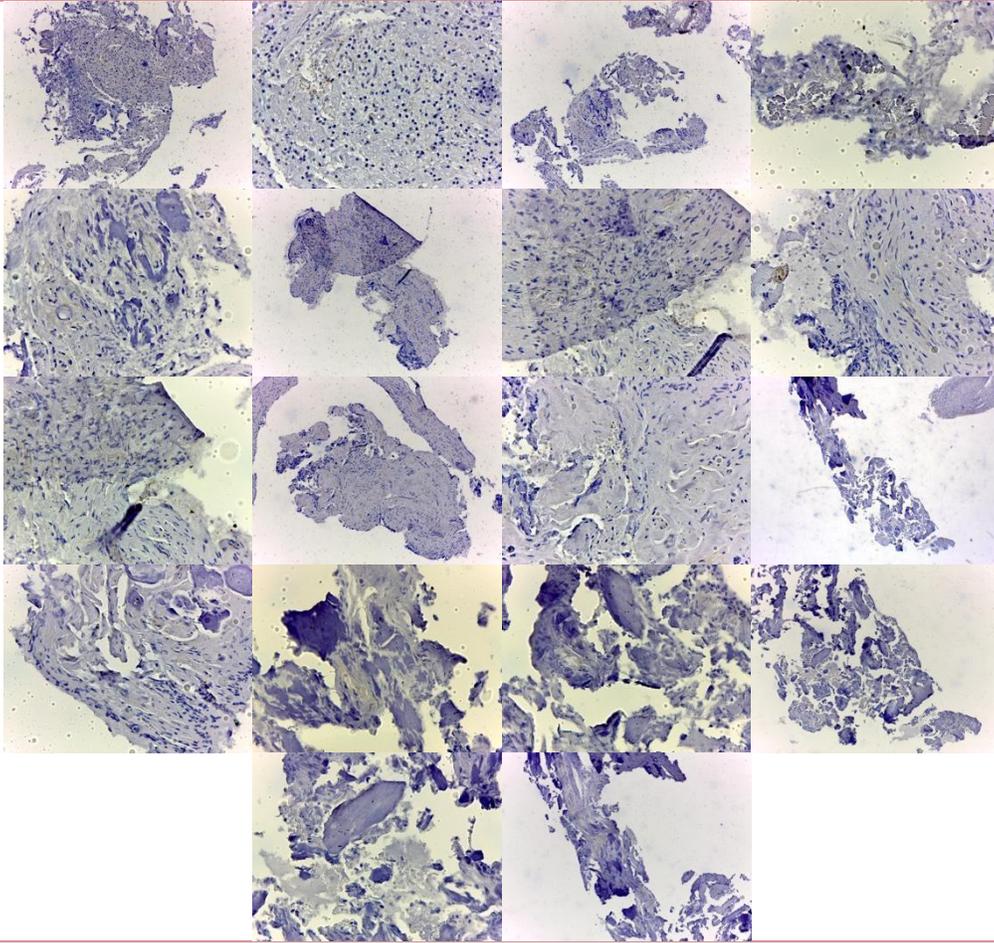


Laminilla 15

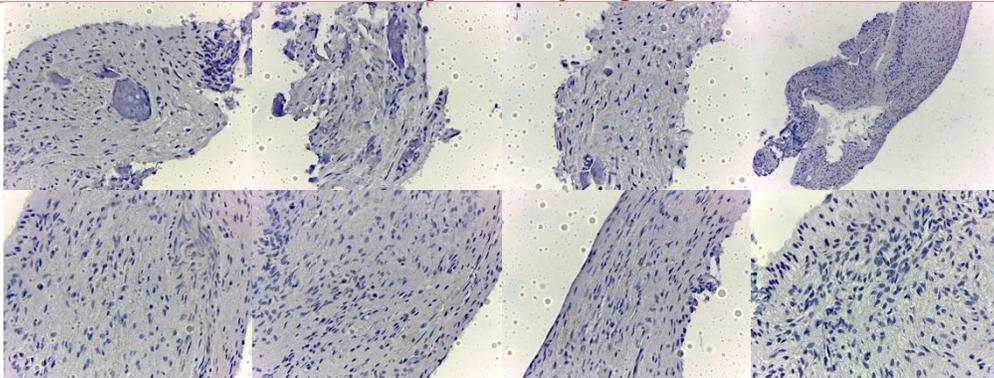
H&E

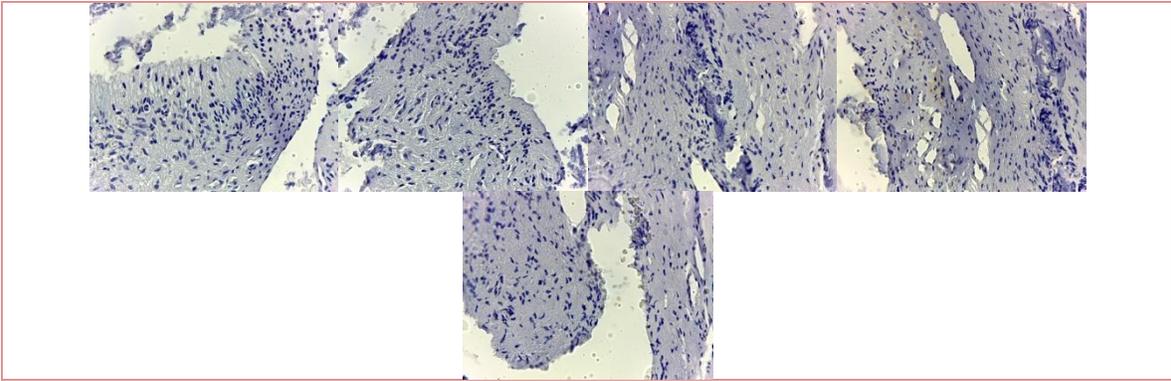


Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

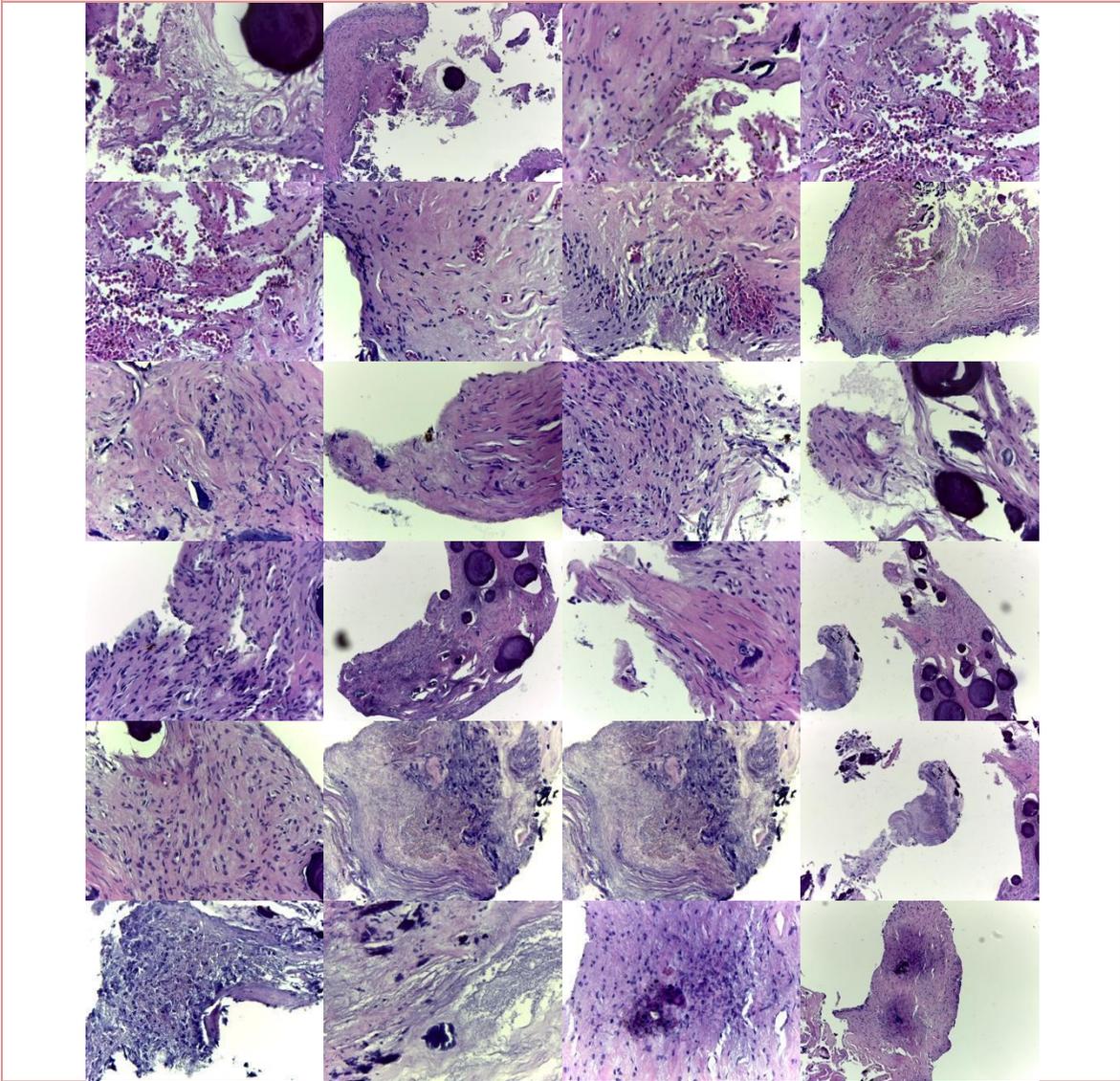


Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)

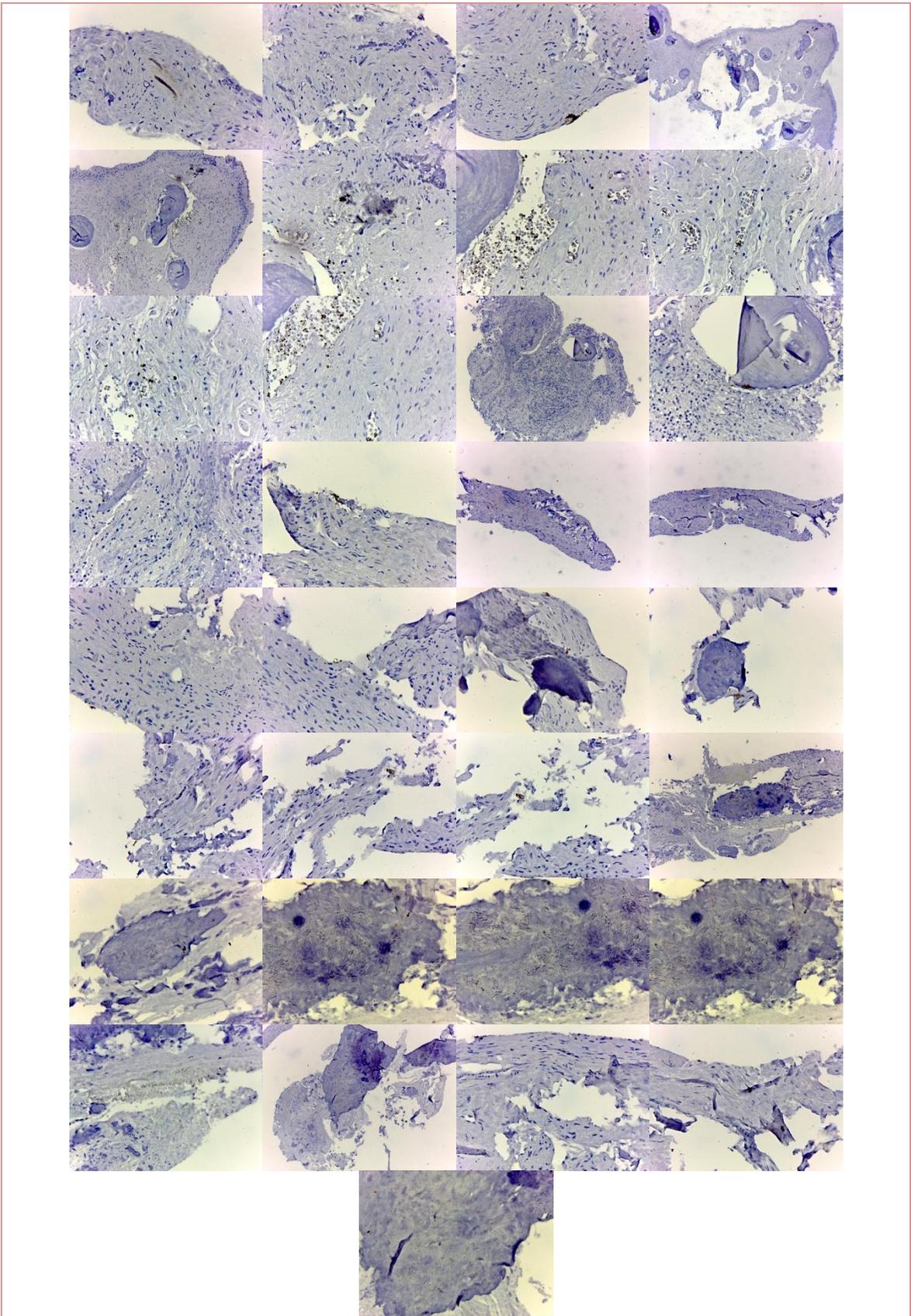




Laminilla 16
H&E

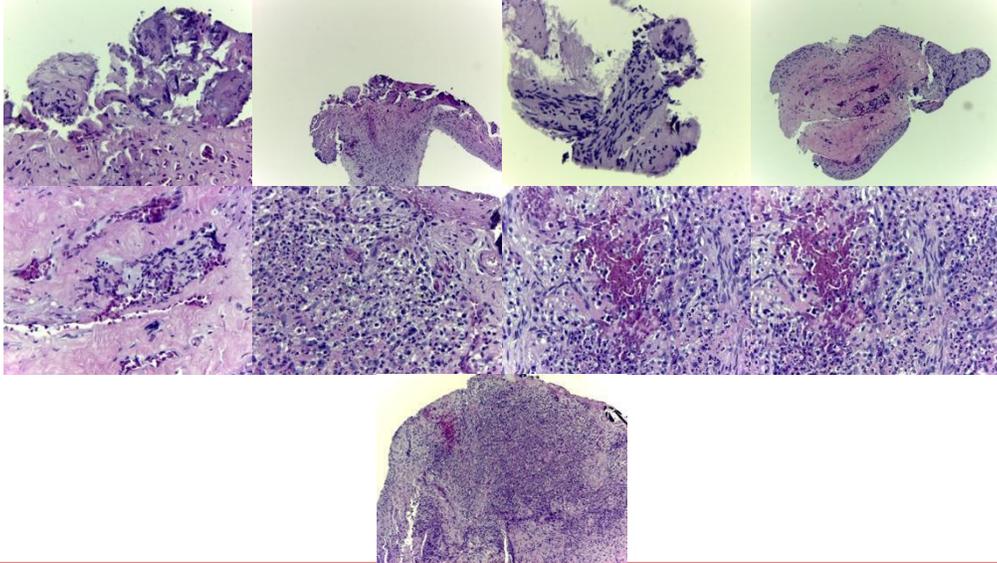


Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)

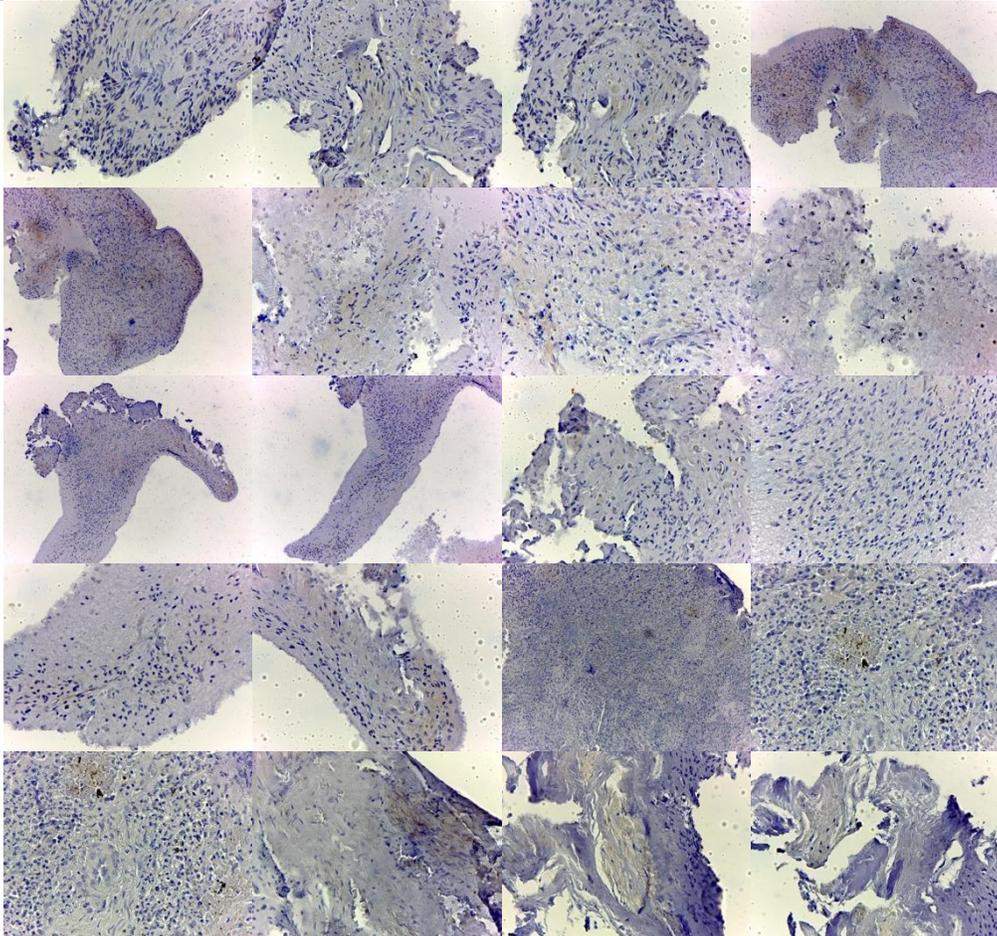


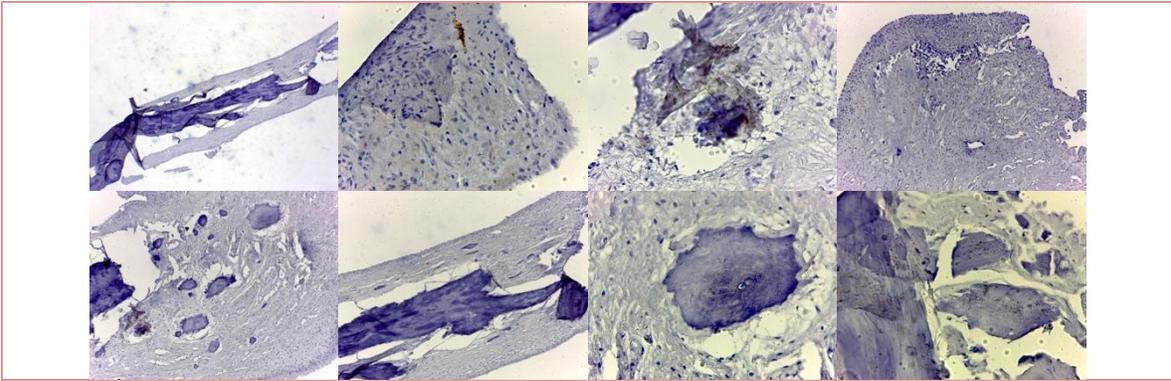
Laminilla 17

H&E

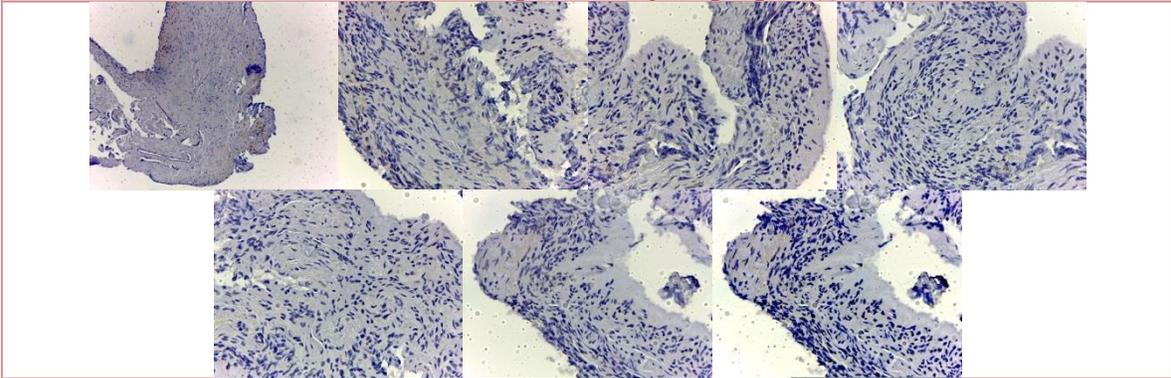


Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)



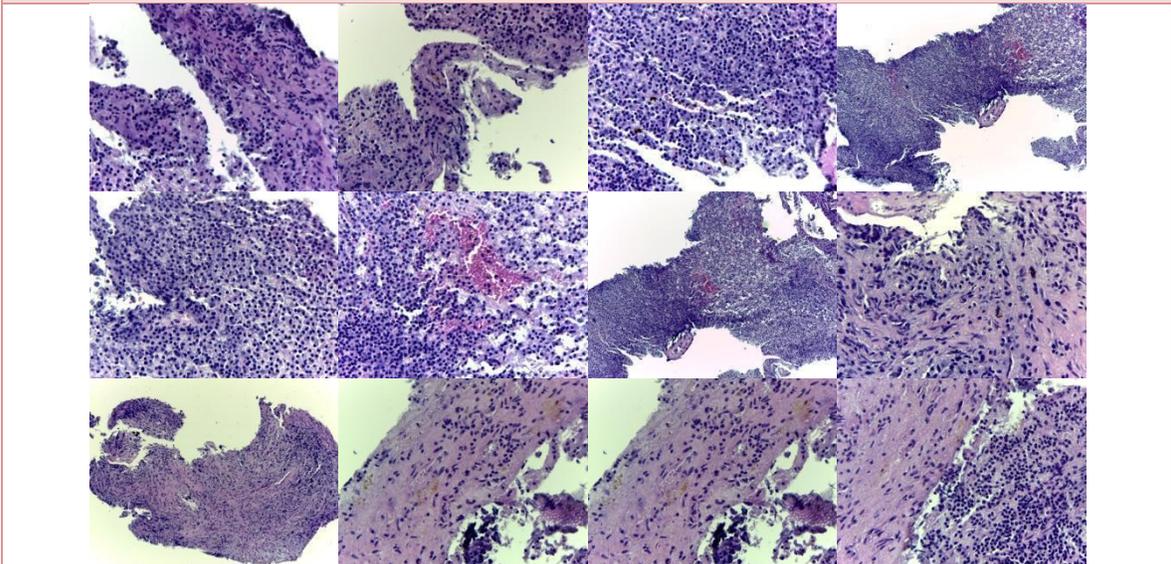


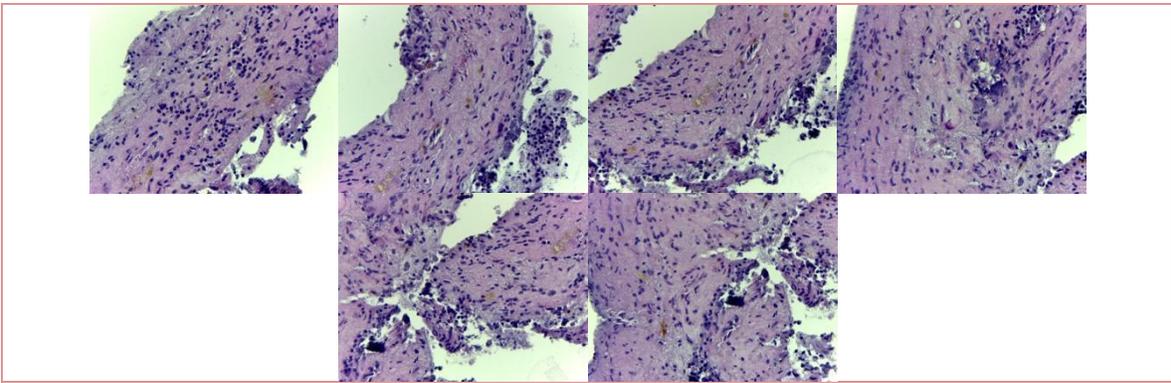
Inmunohistoquímica tejido pulpar (-)



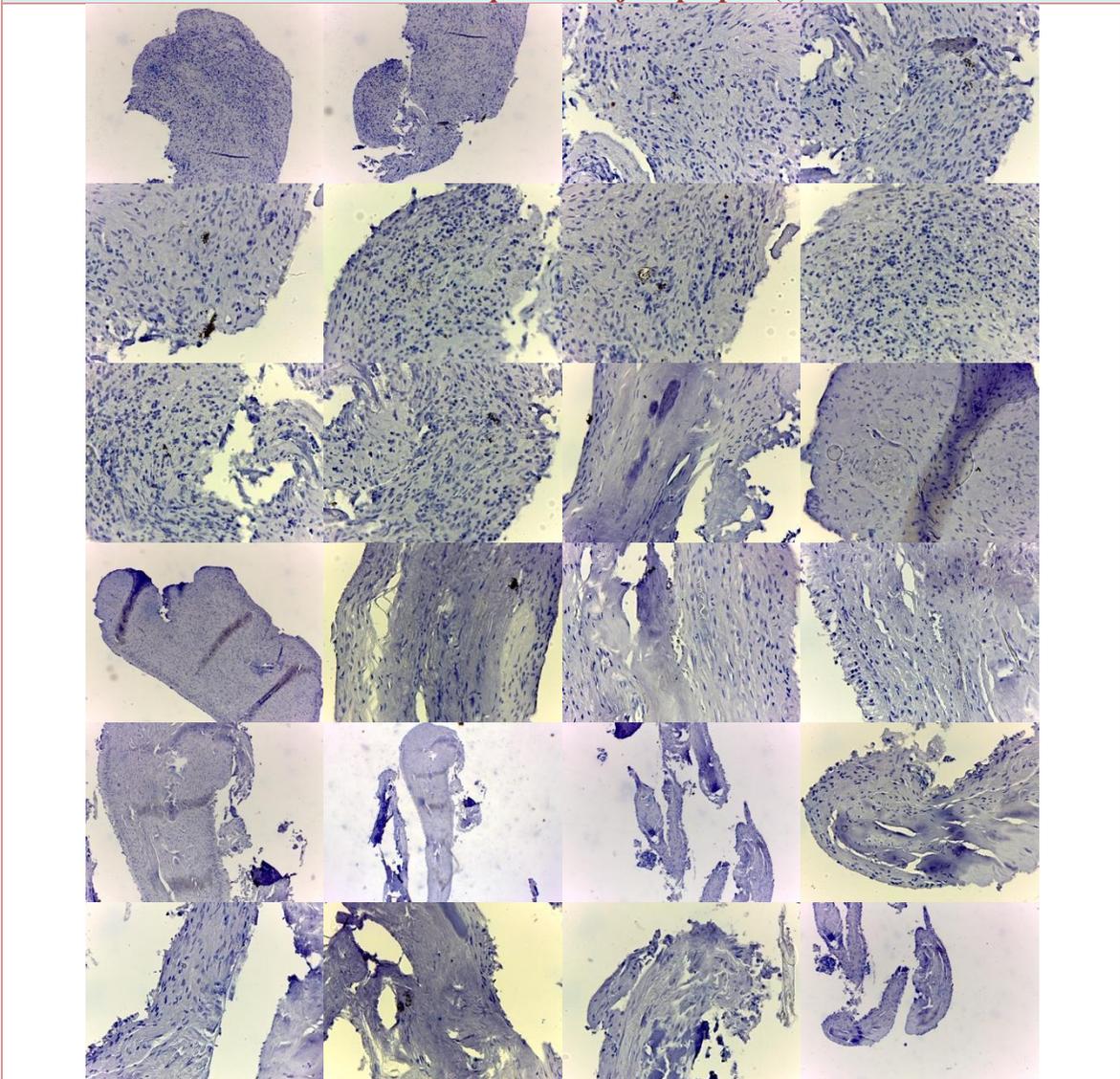
Laminilla 18

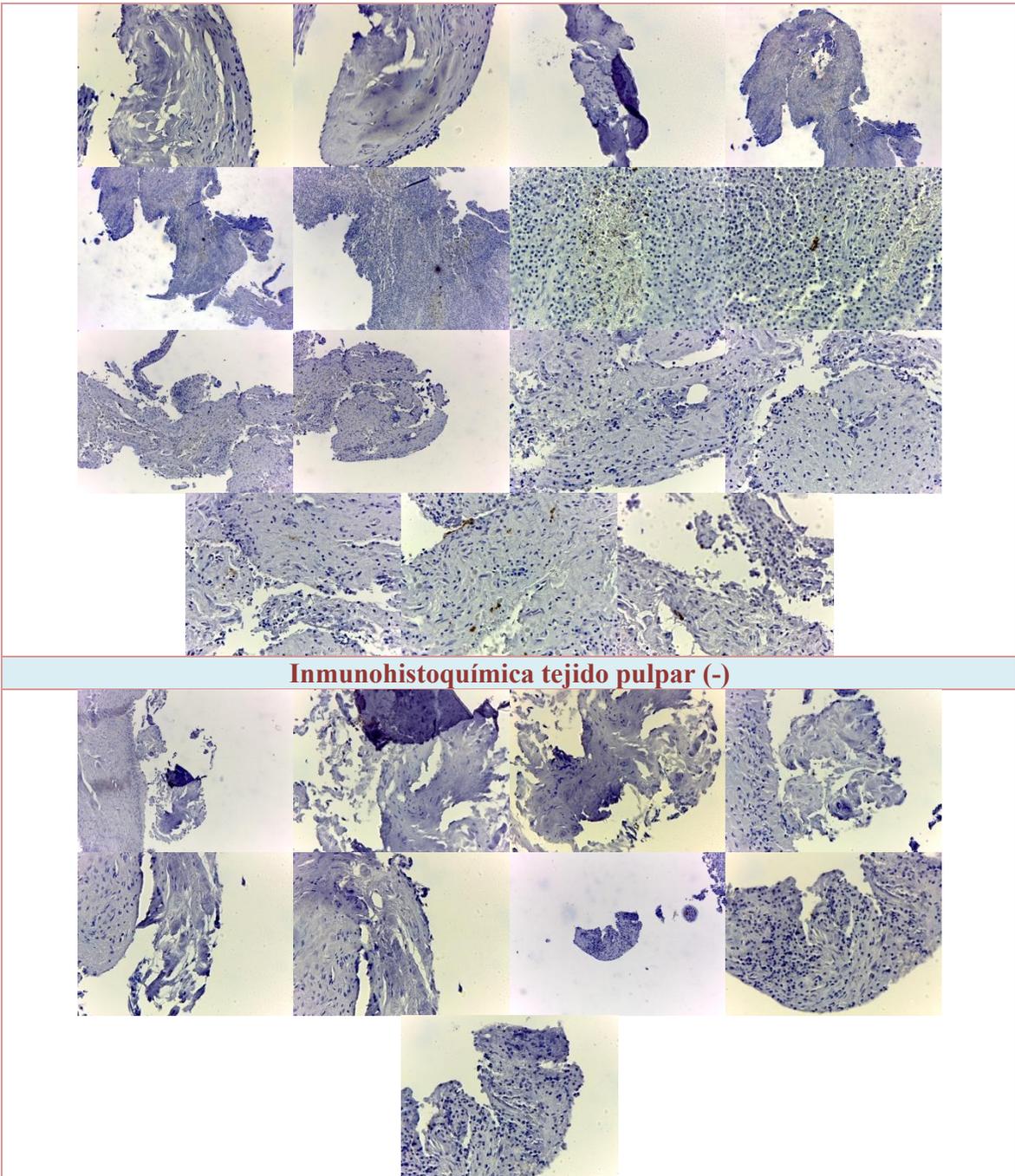
H&E





Inmunohistoquímica tejido pulpar (+)



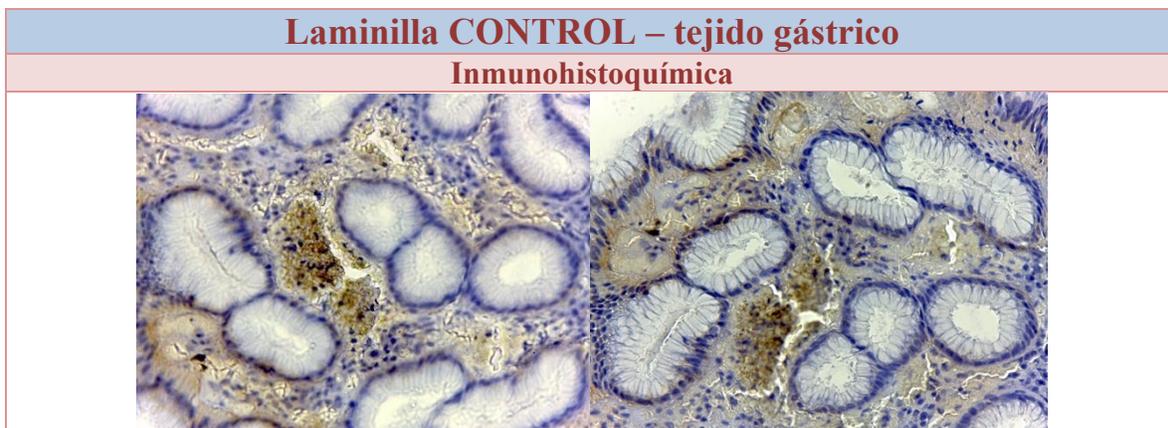


Analizando los datos obtenidos mediante la inmunohistoquímica y el análisis microscópico de las muestras de pulpa dental contra *H. pylori*, podemos determinar su alta positividad en la mayoría de todas las laminillas estudiadas. Así mismo, se encontraron hallazgos significativos tanto en muestras positivas como negativas, los cuales podrían ser relevantes para relacionarlos con factores o patologías a estudiar en investigaciones futuras.

Entre las pulpas positivas, se observó la presencia de calcificaciones pulpaes donde se encontraba el *H. pylori* alrededor de estas. También se detectaron remanentes de dentina (túbulos dentinarios), la presencia de estos elementos podría deberse al procesamiento durante el corte del tejido; sin embargo, su observación es relevante, dado que forman parte del complejo dentinopulpar. Esto permite identificar la ubicación de los nichos bacterianos y su posible presencia en estas estructuras.

Igualmente, se puede analizar la presencia de esta bacteria en el área de las zonas morfológicas de la pulpa en algunos de los campos de las imágenes. Se observa la distribución de la bacteria en las tres capas posteriores a la zona odontoblástica. Por otro lado, la capa odontoblástica no se muestra en muchos campos, lo que podría atribuirse al procesamiento, las dimensiones y la profundidad de los cortes, así como a su posible interacción microbiológica.

En las laminillas que resultaron negativas, se identifica un tejido pulpar con interacción celular en algunas de las laminillas desde el H&E. También se observan ciertas calcificaciones y pulpas con signos de pulpa sana. En este caso, se determina que las pulpas analizadas corresponden a diagnósticos de pulpitis irreversible por distintas etiologías, como traumatismos, restauraciones profundas y dientes referidos para algún procedimiento protésico. Esto podría explicar la ausencia de presencia e invasión de esta bacteria en el tejido pulpar.



En las muestras de control, podemos observar las células características del tejido gastrointestinal, las cuales fueron sometidas a la inmunohistoquímica junto con las pulpas. En estos controles, se evidencia la presencia y distribución del *H. pylori* en color marrón, la cual se comparó minuciosamente con cada una de las muestras pulpaes. Destacan su alta concentración de la bacteria en nichos en las laminillas 4, 8, 9, 12, 13 y 14, tal como se observa en la muestra de control. En cambio, otras laminillas presentaban pequeñas colonias independientes y dispersas unas de otras.

DISCUSIÓN

El estómago se ha considerado durante mucho tiempo como un ambiente estéril, atribuible a su acidez y actividad peristáltica, siendo objeto de revisión en estudios recientes. La microbiota gástrica, en contraste, exhibe una notable heterogeneidad. Entre los patógenos humanos, el *H. pylori* destaca como un ejemplo notable de éxito, ya que ha logrado una prevalencia significativa, infectando a aproximadamente la mitad de la población mundial (28). Así mismo, su vinculación y papel patogénico se extiende a diversas enfermedades, lo que enfatiza su relevancia clínica.

A partir de múltiples hallazgos, se ha descrito que este microorganismo no se limita únicamente al entorno gástrico, si bien, han identificado la presencia del *H. pylori* en la cavidad oral, actuando como reservorio, especialmente en la biopelícula y la saliva (58). Dicha evidencia plantea interrogantes significativas sobre la distribución, caracterización y el impacto del *H. pylori* en diferentes nichos anatomofisiológicos. Con ello, amplía la comprensión de la dinámica del *H. pylori* más allá del estómago, en tanto, su coexistencia en la cavidad oral puede tener coincidencias de relevancia para la salud gastrointestinal y la gestión de infecciones recurrentes.

Con base en estudios epidemiológicos, como los llevados a cabo por Nomura et al. (59) y Almashhadany et al. (58) se ha evidenciado que las personas con caries dental exhiben una mayor susceptibilidad a la infección por *H. pylori*. Además, se ha establecido que la presencia de esta bacteria en el biofilm contribuye significativamente a la incidencia de caries. En un estudio *in vitro*, Nomura et al. (59) reveló que *H. pylori* tiene la capacidad de alterar el equilibrio de la biopelícula oral, afectando la señalización entre los *Streptococos* orales involucrados en la formación del biofilm. Asimismo, se encontró que *H. pylori* crea un entorno propicio para *S. Mutans*.

Zhang et al. (43) sugiere una relación sinérgica entre *S. mutans* y *H. pylori*, destacando que *S. mutans* genera un ambiente enriquecido en dióxido de carbono que beneficia a *H. pylori*, mientras que *H. pylori* podría inducir la producción de proteínas y ácidos por parte de *S. mutans*. Además, Zhang señala que la detección de *H. pylori* en la placa dental tiende a ser superior que en la saliva, atribuyendo esta disparidad a la abundancia de nutrientes. A pesar de que los microorganismos cariogénicos de la biopelícula generan ácidos que reducen el pH, *H. pylori* adapta su estrategia al utilizar ureasa para convertir la urea en amoníaco y el dióxido de carbono, logrando una capacidad amortiguadora que eleva el pH del entorno circundante.

La pulpitis es una de las enfermedades inflamatorias bucales más prevalentes, asociadas a distintos tipos de causas, tales como traumatismos, caries o iatrogenias. Durante un proceso carioso, la primera línea de defensa serán los odontoblastos como respuesta inmunitaria innata; así como las células mieloides, en las que son incluidos los macrófagos, monocitos y neutrófilos (53). Brinkmann et al. (55) identificó un novedoso método de contención y eliminación de patógenos mediado precisamente por neutrófilos, denominado *trampa extracelular de neutrófilo* (NET). Para inducir esta trampa, se requiere una señalización específica. Se considera que la NET constituye el último recurso, ya que su activación conlleva a una muerte celular programada denominada NETosis, la cual es muy diferente de la necrosis y la apoptosis (56). Por lo tanto, cuando se presenta una pulpitis irreversible, es crucial tener en cuenta que los procesos histológicos están más avanzados que los clínicos. En otras palabras, cuando se establece un diagnóstico de pulpitis irreversible, el paciente puede o no presentar dolor agudo y caries profunda, pero histológicamente mostrará zonas de necrosis/inflamación pulpar debido a la respuesta del sistema inmunitario innato, como se mencionó anteriormente la apoptosis solía considerarse una muerte celular accidental, desde el año 2015 se han establecido tres tipos de muertes celulares: apoptosis, necrosis y, ahora, NETosis. Cabe destacar que la NET tiene como objetivo proteger el tejido del huésped, aunque también está asociada a enfermedades autoinmunes como el lupus (56).

En sí, las enfermedades pulpares asociadas a bacterias, dada su naturaleza polimicrobiana, se espera que estén predominantemente vinculadas a bacterias anaeróbicas estrictas, gram negativas, con capacidad para formar biopelículas complejas en el sistema de conductos radiculares y/o túbulos dentinarios. No obstante, lo reportado por Cooper et al. (57) menciona que las bacterias han desarrollado mecanismos de evasión con el objetivo de incrementar su virulencia y evitar la fagocitosis o la NET. Estos mecanismos se basan en la transformación de su ADN o en la modificación de su cápsula, permitiéndoles evadir de manera más eficiente la NETosis.

Toda la información recopilada es de vital importancia para este proyecto de investigación. Sin embargo, nuestro enfoque no se centra específicamente en la etiología de la caries, el comportamiento bacteriano en pulpitis NET o la interacción que pueda existir entre la caries y *H. pylori*, pero, es crucial identificar todos estos factores en nuestro estudio. Como se ha expuesto anteriormente, en los estudios de Brinkmann et al. (55) existe una interrelación directa entre estos factores con la histopatología del diagnóstico de nuestra muestra de tejido pulpar. Por lo tanto, es fundamental discutir e interrelacionar estos hallazgos con la posible presencia de *H. pylori* y su caracterización en PI. Según Zargar et al. (14) existe una alta probabilidad de que los microorganismos presentes en la primera línea de las lesiones cariosas y en la saliva estén implicados en el desarrollo de la PI. Asimismo, Zheng et al. (10) confirma que existen asociaciones positivas entre bacterias específicas en la dentina cariada y la PI, lo que sugiere que las bacterias

presentes en las capas más avanzadas de la caries dentinal son posibles agentes patógenos para inducir la pulpitis e iniciar el proceso inflamatorio a nivel pulpar.

Consideramos de gran relevancia el aporte en el estudio que se presenta, dado que en comparación con investigaciones previas, como las de Barani et al. (13) y Zheng et al. (10), donde se determinaron las bacterias presentes en la PI, ninguno de los dos estudios hizo mención del *H. pylori* ni de la familia *Helicobacteraceae*. En contraste, en nuestro análisis hemos determinado la presencia de *H. pylori* en la pulpitis irreversible. Esta observación refuerza la necesidad de explorar a fondo la relación entre la infección por *H. pylori* y las enfermedades pulpares, lo cual ofrece una perspectiva esencial para comprender la etiología y la progresión de estas condiciones.

La obtención de nuestras muestras de pulpas dentales se realizó siguiendo un protocolo que involucró el diagnóstico clínico, radiográfico y endodóntico. Después de un período de 48 horas, se procedió al procesamiento histológico con el objetivo de realizar la tinción de rutina H&E. Esta técnica fue necesaria para confirmar la presencia de inflamación pulpar utilizando criterios histopatológicos clásicos. Según Donnermeyer et al. (8) la tinción de H&E permite la evaluación la inflamación pulpar, diámetro arteriolar, localización de odontoblastos, células inflamatorias, así como los recuentos celulares, el grado de fibrosis, y la necrosis tisular.

Barani et al. (13), destaca que el examen histológico es considerado el estándar de oro para diagnosticar la pulpitis, aunque reconoce que los hallazgos histológicos pueden no siempre concordar con los síntomas clínicos presentes. Otros estudios como el de Dennermeyer et al. (8) han revelado discrepancias entre los hallazgos clínicos e histológicos en un porcentaje significativo de casos, que oscila entre el 60 % y el 80 %. Esto indica que las alteraciones pulpares suelen subestimarse desde un punto de vista clínico. Desde la perspectiva histológica, la inflamación pulpar se caracteriza generalmente por la presencia de signos inflamatorios que incluyen la presencia de neutrófilos polimorfonucleares, microabscesos e incluso cierto grado de necrosis parcial, todos ellos como consecuencia de la invasión bacteriana.

En la detección del *H. pylori*, se emplean diversos métodos diagnósticos, seleccionados según los escenarios clínicos de cada paciente, y la elección entre métodos invasivos y no invasivos; se determina de acuerdo con la naturaleza de la situación. Investigaciones como las realizadas por Kadota et al. (60) y Iwai et al. (62); han utilizado la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar *H. pylori* en muestras de la cavidad oral. En particular, Kadota et al. (60) desarrolló un método de PCR anidado confiable basado en secuencias completas del genoma de aproximadamente 50 cepas de *H. pylori*, lo que permite una identificación precisa de la bacteria en

diversos tipos de muestras orales. Es fundamental tener en cuenta que la llegada de diversas bacterias al tejido pulpar, a menudo facilitada por caries extensas, desencadena una serie de eventos que culminan en la colonización de dicho tejido.

A pesar de la escasez de estudios específicos que aborden directamente la relación entre *H. pylori* y el tejido pulpar, investigadores como Iwai et al. (62) encontraron la presencia de *H. pylori* en tejido pulpar utilizando técnicas de identificación por PCR, destacando que el tejido pulpar es un reservorio de esta bacteria y que la principal vía para que esta bacteria llegue a la pulpa es a través de la caries dental. Asimismo, concluyeron que la prevención de la caries dental y el tratamiento temprano no solo reducen y previenen el reservorio de *H. pylori* en el tejido pulpar, sino que también pueden disminuir la probabilidad de reinfección en el estómago. Nomura et al. (63) llevó a cabo un análisis del *H. pylori* en pulpa dental inflamada, utilizando muestras de participantes cuya edad oscilaba entre 1 y 19 años. Se tomaron muestras de pulpa de dientes deciduos y permanentes, así como de conductos radiculares infectados con formación de abscesos apicales.

Ambos estudios se realizaron utilizando PCR y lograron identificar el *H. pylori en pulpa dental*. Sin embargo, en el estudio de Iwai et al. (62), las muestras fueron de pulpas dentales sin especificar la histopatología, lo que podría variar desde pulpa inflamada hasta necrótica. Por otro lado, Nomura et al. (63) menciona la utilización de pulpa inflamada, pero incluye dientes temporales y otros con condiciones perirradiculares. En cambio, en nuestra investigación nos hemos centrado en identificar el *H. pylori* únicamente en casos de pulpitis irreversible mediante una evaluación histológica que incluye técnicas como la tinción con H&E y la IHQ.

Además, Malfertheiner, et al. (64) destaca la evaluación histológica como estándar de oro para el diagnóstico y evaluación de *H. pylori*. La decisión de utilizar la evaluación histológica como enfoque principal se justifica no solo por considerarlo como estándar de oro, sino también por su eficacia y versatilidad en la detección de *H. pylori*, aspectos resaltados por Malfertheiner. Además, se ha considerado más económico y práctico este método, en comparación con métodos más costosos y complejos, como las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o los cultivos bacterianos.

La inmunohistoquímica ha desempeñado un papel fundamental en nuestra investigación, al proporcionar un método crucial para la identificación específica de antígenos asociados con *H. pylori*. Nos ha permitido obtener una caracterización más precisa de la presencia de la bacteria en los tejidos pulpares evaluados, mejorado significativamente nuestra capacidad para identificar y localizar *H. pylori* en el campo histológico con microscopía de luz; ya que no solo se limita a la detección de

la bacteria, sino que nos brinda una comprensión más específica, al permitir la caracterización morfológica y distributiva de *H. pylori* en el tejido.

Con respecto a información demográfica como la edad, el estudio llevado a cabo por Almashhadany, et al. (58) sobre los factores de riesgo dental asociados a la infección oral por *H. pylori*. A través de un enfoque transversal, evaluó diversos grupos de edad, revelando que no existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la infección. Esto sugiere, que la edad no desempeña un papel determinante como factor de riesgo para la infección por *H. pylori* en el ámbito oral. De manera similar, los datos de sexo tampoco demostraron asociación con la infección por esta bacteria. Por otro lado, nuestro estudio se centró en las pulpas dentales de personas de entre 25 y 50 años, sin tener en cuenta consideraciones sobre un diente en específico o el sexo del paciente. Esta elección metodológica nos permitió estudiar un mayor número de tejidos, explorando la presencia de *H. pylori* en pulpas dentales sin limitarnos tampoco las condiciones sistémicas del paciente.

Es relevante subrayar que este estudio reveló una elevada positividad para *H. pylori* en tejido pulpar con diagnóstico de pulpitis irreversible. A diferencia de investigaciones previas centradas en la búsqueda de la bacteria en muestras orales, nuestra aproximación se dirigió específicamente al tejido pulpar. Sin embargo, otros estudios han confirmado la presencia de *H. pylori* en el medio oral, destacando su positividad, nuestra investigación profundiza en su relación directa con la pulpitis irreversible.

CONCLUSIONES

Esta investigación ha evaluado y caracterizado la presencia del *H. pylori* en casos de pulpitis irreversible mediante técnicas de inmunohistoquímica, evidenciando una alta positividad de la bacteria y estableciendo así una base fundamental para futuras investigaciones en este campo. La escasez de descripciones detalladas sobre la presencia de este microorganismo en el tejido pulpar resalta la necesidad de estudios más exhaustivos para comprender completamente su relación con la pulpitis. Aún queda por determinar la función principal y el tipo de cepa de *H. pylori* presente en la pulpa dental, aspectos que requerirán investigaciones adicionales para ampliar nuestro entendimiento.

Este enfoque nos capacita para evaluar la importancia de la salud oral en pacientes con infecciones por *H. pylori* y su posible relación con afecciones gastrointestinales, proporcionando así una visión más completa y precisa para la atención clínica. En resumen, el estudio subraya la necesidad de abordar esta brecha en la literatura científica mediante investigaciones más exhaustivas, contribuyendo de esta manera a un conocimiento integral de las implicaciones histopatológicas, clínicas y terapéuticas asociadas con la interacción entre *H. pylori* y el tejido pulpar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Canalda SC, Brau AE, editors. *Endodoncia + studentconsult en español : Técnicas clínicas y bases científicas*. Elsevier; 2014
2. Hargreaves K, Cohen S, Berman L. *Vías de la pulpa*. Editorial: Elsevier. Edición: 10ª Año; 2011.
3. Kwon HJE, Jiang R. *Development of teeth*. 2018.
4. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A, Carranza M, Arriaga A. *Histología y embriología bucodental*. *Histología y embriología bucodental*. In: Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A, Carranza M, Arriaga A, editors. *Histología y embriología bucodental*. 2002; xv-467.
5. Kumar G. *Orban's oral histology and embryology*. Elsevier India; 2011.
6. Chiego Jr DJ, editor. *Principios de histología y embriología bucal: Con orientación clínica*. Elsevier Health Sciences; 2021.
7. Zahran S, Witherden E, Mannocci F, Koller G. *Characterization of root canal microbiota in teeth diagnosed with irreversible pulpitis*. *Journal of Endodontics*. 2021;47(3):415-423.
8. Donnermeyer D, Dammaschke T, Lipski M, Schäfer E. *Effectiveness of diagnosing pulpitis: A systematic review*. *International Endodontic Journal*. 2023;56:296-325.
9. Shetty P, Shetty S, Rai P, Kumar BK, Bhat R. *Role of oral microbiota in irreversible pulpitis - Current strategies and future perspectives*. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*. 2023;70(3):177-186.
10. Zheng J, Wu Z, Niu K, Xie Y, Hu X, Fu J, et al. *Microbiome of deep dentinal caries from reversible pulpitis to irreversible pulpitis*. *Journal of endodontics*. 2019;45(3):302-309.
11. Guillén PLV. *Bacterias de interés odontológico*. Ediciones de la Universidad de Murcia (Editum); 2015.
12. Briceño E, Pardi G, Perrone M. *Nuevas especies del genero prevotella y su importancia en el área odontológica: Revisión de la literatura*. *Acta odontológica venezolana*. 2009;47(4):167-173.
13. Barani M, Aliu X, Ajeti N, Asllani L. *Assessment of correlation between clinical, radiographic, microbiological, and histopathological examinations in identification of pulpal diseases - a single-centre study*. *Saudi Dent J*. 2023;35(5):540-546.
14. Zargar N, Ashraf H, Marashi SMA, et al. *Identificación de microorganismos en pulpitis irreversible e infecciones endodónticas primarias con respecto a los hallazgos clínicos y radiográficos*. *Clin Oral Invest*. 2020;24:2099-2108.
15. Rivero-Rodríguez L, Bolaños-Rivero M, Rodríguez de León JM, de Miguel Martínez I. *Peritonitis por Clostridium baratii en paciente cirrótico [Clostridium baratii peritonitis in a cirrhotic patient]*. *Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*. 2022;35(6):579-580.

16. Kreling GAD, Dagostin MA, Park M. Empyema caused by *Clostridium septicum* infection in a patient with lung cancer. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2018.
17. Cardoso JC, Ferreira D, Assis R, Monteiro J, Coelho I, Real A, et al. *Streptococcus oralis* meningitis. *European Journal of Case Reports In internal Medicine*. 2021;8(5).
18. Okahashi N, Nakata M, Kuwata H, Kawabata S. Oral mitis group streptococci: A silent majority in our oral cavity. *Microbiology and Immunology*. 2022;66(12):539-551.
19. Alberti MO, Hindler JA, Humphries RM. Antimicrobial susceptibilities of *Abiotrophia defectiva*, *Granulicatella adiacens*, and *Granulicatella elegans*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2016;60(3):1411-1420
20. Yu W, Wang J, Dai D, Wang H, Zhang M, Zhang Z, et al. Application of a caries treatment difficulty assessment system in dental caries management. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(21):14069.
21. Bastidas XAC. *El sistema ICDAS como método complementario para el diagnóstico de caries dental*. 2015.
22. Arreguín-Cano JA, Gerónimo CR, Bermúdez CH, Pérez MF O, Arroyo JA V, Valadez C Á, et al. Dental caries and caries-associated mechanisms found in the saliva of first year students at the School of Dentistry, UNAM (National Autonomous University of Mexico). *Revista odontológica mexicana*. 2016;20(2):77-81.
23. Zhang JS, Chun-Hung C, Yu OY. Desarrollo del microbioma oral y caries dental. *Revista de Odontología*. 2022;10(10):184.
24. Anand PS, Kamath KP, Anil S. Role of dental plaque, saliva and periodontal disease in *Helicobacter pylori* infection. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(19):5639–5653.
25. Núñez DP, García Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2010;9(2):156-166.
26. Figueroa-Gordon M, Acevedo AM, Alonso G. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. *Acta odontológica venezolana*. 2009;47(1):227-240.
27. Glickman GN. AAE Consensus Conference on Diagnostic Terminology: background and perspectives. *Journal of Endodontics*. 2009;35(12):1619-1620.
28. Martín A, Béjar , Victoria, Gutiérrez JC, Llagostera M, Quesada E. *Microbiología esencial*. Editorial Médica Panamericana; 2019.
29. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA, Blengio Pinto JR, et al. *Microbiología médica: Jawetz, Melnick y Adelberg (26a. edición)*. McGraw-Hill Interamericana; 2014.
30. Borstnar CR, Cardellach F, editors. *Farreras Rozman. Medicina Interna*. Elsevier Health Sciences; 2020.

31. Almashhadany DA, Mayas SM, Mohammed HI, Hassan AA, Khan IUH. Population- and gender-based investigation for prevalence of *Helicobacter pylori* in Dhamar, Yemen. *The Canadian Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2023.
32. Pajares JM, Gisbert JP. *Helicobacter pylori*: its discovery and relevance for medicine. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2006;98(10):770
33. Ofori EG, Adinortey CA, Ansumana SB, Kyei F, Emmanuel AT, Adinortey MB. *Helicobacter pylori* infection, virulence genes' distribution and accompanying clinical outcomes: The West Africa situation. *BioMed Research International*. 2019;2019:13.
34. Chmiela M, Walczak N, Rudnicka K. *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles involvement in the infection development and *Helicobacter pylori*-related diseases. *Journal of Biomedical Science*. 2018;25.
35. Hua JS, Zheng PY, Bow H. Species differentiation and identification in the genus of *Helicobacter*. *World Journal of Gastroenterology*. 1999;5(1):7–9.
36. Mateos Muñoz B, Pérez de la Serna J, Ruiz de León A, Serrano Falcón B, Casabona Francés S, Velasco Cerrudo A, et al. Estandarización de nuevo protocolo Inmunohistoquímico para identificar *Helicobacter pylori* de biopsias gástricas y valoración frente a la tinción Hematoxilina-Eosina. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*. 2020;13(3):291-298.
37. Ramis G, Quereda JJ, Muñoz A, Gómez S, Pallarés FJ. en el estómago del cerdo. *Am J Vet Res*. 2006;6:938-44.
38. Chahuán J, Pizarro M, Díaz LA, Villalón A, Riquelme A. Métodos de diagnóstico para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterología Latinoamericana*. 2020;31:98-106.
39. González MF, Díaz P, Sandoval-Bórquez A, Herrera D, Quest AFG. *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles and extracellular vesicles from *Helicobacter pylori*-infected cells in gastric disease development. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(9):4823.
40. Alarcón-Millán J, Bonilla-Delgado J, Fernández-Tilapa G, Nayeli Goreti Nieto-Velázquez, Sierra-Martínez M, Alvarado-Castro V, et al. *Helicobacter pylori* virulence factors and clarithromycin resistance-associated mutations in Mexican patients. *Pathogens*. 2023;12(2):234.
41. Wareeporn W, Theeraya SB, Taweesak TT. Relationship between *Helicobacter pylori* virulence genes and gastroduodenal disease. *Journal of International Medical Research*. 2023;51(3).
42. Torres Jiménez, Franklin, & Torres Bayona, Carlos. Fisiopatología molecular en la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Salud Uninorte*. 2016;32(3):500-512

43. Zhang L, Chen X, Ren B, Zhou X, Cheng L. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: Current evidence and potential survival strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(21):13646.
44. Anand PS, Kamath KP, Anil S. Role of dental plaque, saliva and periodontal disease in *Helicobacter pylori* infection. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(19):5639–5653.
45. Agreda JDP, Parra ÁLC, Rodríguez MJM, Trinidad FSB, Shiguango JAO, Nieto RGR, et al. Aproximación actual a la infección por *Helicobacter pylori*. *Archivos Venezolanos De Farmacología y Terapéutica*. 2020;39(2):167-171.3
46. Chahuan J, Pizarro M, Riquelme A. Métodos diagnósticos para la detección de infección por *Helicobacter pylori*. ¿ Cuál y cuándo deben solicitarse?. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*. 2022;52(1):36-46.
47. García-Morales N, Pérez-Aísa Á, Fiorini G, Tepes B, Castro-Fernández M, Lucendo A, et al. *Helicobacter pylori* diagnostic tests used in Europe: Results of over 34,000 patients from the European registry on *Helicobacter pylori* management. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(13):4363.
48. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, Gulati AK, Nath G. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: what should be the gold standard?. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(36):12847–12859.
49. Frías Ordoñez JS, Otero Regino W. Aspectos prácticos en métodos diagnósticos para la infección por *Helicobacter pylori*: una revisión narrativa. *Revista de Gastroenterología del Perú*. 2017;37(3):246-253.
50. Sicilia MJR. Métodos diagnósticos de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista andaluza de patología digestiva*. 2023;46(3):145-154.
51. Pawlina W, Ross MH. Ross. *Histología: Texto y Atlas: Correlación con Biología Molecular y Celular*. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2020.
52. Mejía-Parra JLJ, Guerrero-Espinoza A.E, Flores-Arrascue CP, Chiclayo-Padilla AS. Estandarización de nuevo protocolo Inmunoquímico para identificar *Helicobacter pylori* de biopsias gástricas y valoración frente a la tinción Hematoxilina-Eosina. *Rev Cuerpo Méd Hosp Nac Almanzor Aguinaga Asenjo*. 2020;13(3):291-298.
53. Ginnis J, Ferreira Zandoná AG, Slade GD, Cantrell J, Antonio ME, Pahel BT, et al. Measurement of early childhood oral health for research purposes: dental caries experience and developmental defects of the enamel in the primary dentition. En: Divaris K, editor. *Odontogenesis: Methods and Protocols*. 2019. p. 511-523.
54. Bohórquez JV, Vanegas OAA, Murillo EAT. Avances en la genética de la formación dental: una revisión. *Ustasalud*. 2014;13(2):157-164.
55. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-1535.

56. Holder MJ, Wright HJ, Couve E, Milward MR, Cooper PR. Neutrophil extracellular traps exert potential cytotoxic and proinflammatory effects in the dental pulp. *Journal of Endodontics*. 2019;45(5):513-520.
57. Cooper PR, Chicca IJ, Holder MJ, Milward MR. Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: net gain or net loss?. *Journal of Endodontics*. 2017;43(9):S87-S94.
58. Almashhadany DA, Zefenkey ZF, Ahmed MZ. Dental risk factors associated with oral *Helicobacter pylori* infection: A cross-sectional study based on saliva antigen test. *Journal of Infection in Developing Countries*. 2022;16(3):516-521.
59. Nomura R, Kadota T, Ogaya Y, Matayoshi S, Iwashita N, Okawa R, Nakano K. Contribution of *Streptococcus mutans* to *Helicobacter pylori* colonisation in oral cavity and gastric tissue. *Sci Rep*. 2020;10(1):12540.
60. Kadota T, Hamada M, Nomura R, Ogaya Y, Okawa R, Uzawa N, et al. Distribution of *Helicobacter pylori* and periodontopathic bacterial species in the oral cavity. *Biomedicines*. 2020;8(6):161.
61. Moradi Y, Majidi L, Khateri S, Azh N, Gheshlagh RG, Saniee N, et al. The association between periodontal diseases and *Helicobacter pylori*: an updated meta-analysis of observational studies. *BMC Oral Health*. 2023;23(1):523.
62. Iwai K, Watanabe I, Yamamoto T, Kuriyama N, Matsui D, Nomura R, et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and dental pulp reservoirs in Japanese adults. *BMC Oral Health*. 2019;19:1-8.
63. Nomura, R., Ogaya, Y., Matayoshi, S., Morita, Y., & Nakano, K. (2018). Molecular and clinical analyses of *Helicobacter pylori* colonization in inflamed dental pulp. *BMC oral health*, 18(1), 64.
64. Malfertheiner P, Camargo MC, El-Omar E, Liou J, Peek R, Schulz C, et al. *Helicobacter pylori* infection (primer). *Nature Reviews: Disease Primers*. 2023;9(1):19.

ANEXOS

Consentimiento informado e historia clínica.

HISTORIA CLÍNICA Endodoncia

CONSENTIMIENTO VALIDAMENTE INFORMADO PARA EL TRATAMIENTO DE ENDODONCIA:

El propósito del tratamiento de conductos es salvar el diente que de otra manera requeriría extracción. Si bien este tratamiento tiene un alto grado de éxito, los resultados como cualquier procedimiento médico o dental no pueden ser garantizados. Este tratamiento no le previene de fracturas, caries o enfermedad de las encías. Recuerde que al término del tratamiento de endodoncia es necesario colocar una corona, antes de cumplir 30 días. Ocasionalmente los dientes con tratamiento endodóncico podrán necesitar un retratamiento, cirugía o bien extracción.

RIESGOS:

Con pocas posibilidades de que ocurra; sin embargo, pueden presentarse algunos de estos casos:

- Separación de instrumentos en el conducto
- Perforación del conducto con el instrumento
- Bloqueo del conducto radicular que no permitirá completar el tratamiento adecuadamente
- Infección post-operatoria
- Entumecimiento temporal
- Dificultad al morder o abrir la boca
- Si el tratamiento es abandonado pueden ocurrir problemas sistémicos
- Reacciones a los anestésicos, químicos o medicamentos utilizados

ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTOS

- No efectuar ningún tratamiento
- Extracción Este tratamiento una vez terminado deberá ser restaurado en máximo 30 días con el propósito de disminuir las posibilidades de fracaso y/o fractura.

He tenido la posibilidad de hacer preguntas al doctor y quedo satisfecho(a) con las respuestas. Yo consiento el procedimiento, además de que puedan utilizar mis imágenes clínicas y radiográficas con fines académicos.

DIENTE _____ FECHA _____

PX NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE OTUTOR: _____

NOTA:

HISTORIA CLÍNICA

Endodoncia

DATOS PERSONALES									
Fecha / /	Apellido paterno			Apellido materno			Nombre (s)		
Teléfono de casa	Oficina	Celular			Correo electrónico				
Calle			No. Exteriores			No. Interiores			
Colonia	Estado	Código postal				Fecha de nacimiento			
Ocupación	Estatura	Peso				Sexo			
Contacto de emergencias	Parentesco	Teléfono				Teléfono celular			
ENFERMEDADES									
Enfermedad o condición		Si	No	No se	Enfermedad o condición		Si	No	No se
Anemia					Epilepsia				
Alteraciones renales					Fiebre reumática / enfermedad cardíaca				
Angina / Dolor en el pecho cuando se hace esfuerzo					Hepatitis, ictericia o enfermedad del Hígado				
Asma					Infarto al miocardio				
Ataque de apoplejía					Inflamación preexistente de los ganglios del cuello				
Cáncer/quimioterapia/radioterapia					Marcapasos				
Defectos de corazón congénitos / daño en las válvulas Cardíacas					Osteoporosis				
Desmayos o apoplejías					Presión arterial alta o baja				
Diabetes tipo I o II					Sangrado normal				
Enfisema					SIDA, infección por VIH				
Dolor crónico y enfisema					Soplo en el corazón				
Enfermedad cardiovascular					Tiene o a tenido tuberculosis				
¿Tiene alguna enfermedad, condición o problema que no haya sido mencionado y que crea que el dentista debería saber? Explique, por favor:									
INFORMACION DENTAL									
Datos		Si	No	No se	Datos		Si	No	No se
¿Le sangra las encías cuando se cepilla o cuando usa hilo dental?					¿Le quedan alimentos o hilo dental atrapados entre los dientes?				
¿Sus dientes están sensibles al frío o al calor con los dulce o al masticar?					¿Tiene algún ruido, salto o molestia en la mandíbula?				
¿Tiene la boca seca?					¿Tiene bruxismo o rechina los dientes?				
¿Ha tenido un tratamiento periodontal (encia)?					¿Tiene lesiones o úlceras en la boca?				
¿Ha tenido tratamiento de ortodoncia (con aparatos)?					Usa dentaduras(placa) ¿parcial o completa?				
¿Ha tenido algún problema asociado con un tratamiento dental?					¿Ha sufrido alguna lesión en la cabeza o en la boca?				
¿Tiene dolor o molestia dentales en este momento?					¿Sufre de dolor de oídos o cuello?				
¿Dónde está localizado el dolor o la molestia dental?									
¿Cuánto tiempo ha tenido el dolor o la molestia dental?									