

C.D. MAYEMI SANTIAGO MARTÍNEZ

EVIDENCIA DE LA LOCALIZACIÓN DEL RECEPTOR DE  
OXITOCINA EN PULPA DENTAL EN HUMANO

2024



**Universidad Autónoma de Querétaro**

**Facultad de Medicina**

**“EVIDENCIA DE LA LOCALIZACIÓN DEL RECEPTOR DE  
OXITOCINA EN PULPA DENTAL EN HUMANO”**

**Tesis**

Que como parte de los requisitos  
para obtener el grado de

**MAESTRA EN INVESTIGACIÓN MÉDICA  
LÍNEA TERMINAL EN SALUD PÚBLICA**

Presenta:

C.D Mayemi Pamela Santiago Martínez

Dirigido por:

Dr. Miguel Condés Lara

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Querétaro, Querétaro. México. Mayo de 2024.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales  
de Información



Evidencia de la localización del receptor de oxitocina  
en pulpa dental en humano

**por**

Mayemi Pamela Santiago Martínez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**Clave RI:** MEMAN-302297



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Medicina**  
**Maestría en Investigación Médica**  
**Línea Terminal en Salud Pública**



**“EVIDENCIA DE LA LOCALIZACIÓN DEL RECEPTOR DE  
OXITOCINA EN PULPA DENTAL EN HUMANO”**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
**Maestra en Investigación Médica línea terminal en Salud Pública**

**Presenta:**

C.D. Mayemi Pamela Santiago Martínez

**Dirigido por:**

Dr. Miguel Condés Lara

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Dr. Miguel Condés Lara  
**Presidente**

Dra. María Daniela Frade Pérez  
**Secretario**

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez  
**Vocal**

Mtra. Lilia Susana Gallardo Vidal  
**Suplente**

Dr. Carlos Francisco Sosa Ferreyra  
**Suplente**

Centro Universitario, Querétaro, Qro. 02 de Mayo de 2024.



## Agradecimientos

Para el desarrollo del proyecto para el **PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA PAPIIT** Clave IN202222 con título "**Efectos analgésicos de la oxitocina: una perspectiva terapéutica para el hombre con dolor crónico**".

## **Agradecimientos Especiales**

**A la Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Medicina, Maestría en Investigación Médica con línea terminal Salud Pública** por facilitar las asignaturas, los recursos necesarios para mi formación, gracias al cuerpo docente mi admiración y respeto.

El presente proyecto fue realizado en el **Laboratorio B-16 de Dolor y Epilepsia en el Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla**, a cargo del **Dr. Miguel Condés Lara**.

A el **Dr. Miguel Condés Lara, Profesor e Investigador Emérito** mi Director de Tesis de Maestría.

Considero que su sabia enseñanza me ayudó a darme cuenta del conocimiento que me ha compartido y para mí es invaluable.

Agradezco las oportunidades otorgadas, las pruebas, retos, conversaciones que me permitieron aprender, avanzar y madurar. Por introducirme a la belleza de la ciencia y demostrarme que, además de tener disciplina y perseverancia, el componente emocional de hacer ciencia es muy importante.

Por su guía, confianza y apoyo a pesar de las circunstancias. Gracias por dirigirme al descubrimiento en Investigación y brindarme todos los recursos para lograrlo, siempre será un ejemplo a seguir profesionalmente.

## Agradecimientos Especiales

A la **Dra. María Guadalupe Martínez Lorenzana** adscrita al laboratorio B-16 de Dolor y Epilepsia en el Instituto de Neurobiología, UNAM por su apoyo técnico-académico en el montaje de las técnicas utilizadas para este trabajo: desde la técnica de descalcificación de molares humanos; capacitación en la técnica histológica por congelación de pulpas dentales para su seccionado mediante criostato; selección de anticuerpos y montaje de la técnica de Inmunofluorescencia para la detección de CGRP y OTr. Así como, por la capacitación otorgada en la Microscopia de epifluorescencia para la obtención de imágenes en un solo plano y por la obtención de imágenes de pulpas dentales en el microscopio confocal. Además, de la ayuda otorgada en la revisión bibliográfica y facilitar los artículos para el planteamiento de este estudio.

A el **Dr. Abimael González Hernández**, adscrito al laboratorio B-16 de Dolor y Epilepsia en el Instituto de Neurobiología, UNAM. Investigador que admiro.

Como cualquier estudiante, yo toqué puerta para iniciar un proyecto de Investigación y recibí apoyo, asesoramiento, retroalimentación. Agradezco la disposición de ayudarme durante el desarrollo del presente proyecto de investigación y al mismo tiempo dejaste que yo descubriera, investigara y armara mi rompecabezas.

Además, agradezco la oportunidad de permitirme participar en las clases de Neurofarmacología que me han ayudado a continuar aprendiendo nuevos conceptos y el impacto que se tiene en el área clínica.

A la **Ing. Elsa Nydia Hernández Ríos** por su apoyo técnico en el uso del microscopio confocal, en la Unidad de Microscopía del Instituto de Neurobiología, UNAM. Campus Juriquilla, Querétaro.

## Agradecimientos Especiales

A la Facultad de Odontología de la Universidad de La Salle Bajío Campus Campestre, por permitir la recolección de muestras de tejido dental. A el **Dr. Benjamín Morales Trejo**, Cirujano Maxilofacial por llevar a cabo los procedimientos quirúrgicos de extracción de terceros molares, gracias por su apoyo y disposición siempre.

A mis compañeros y amigos del Instituto de Neurobiología: A el **Dr. Antonio Espinosa de los Monteros Zúñiga**, admiro tu dedicación Toño, Llevaré una frase tuya “el efecto depende del contexto”, agradezco el apoyo, enseñanzas y guía en cada avance del presente trabajo. A el **M. en C. Gustavo López Córdoba**, perseverante, gracias por el apoyo en las sesiones.

A mis compañeros y amigos de Maestría de la Universidad Autónoma de Querétaro: **Randolph, Guillermo, Iván, Hiram, Luis**, hemos vivido experiencias ridículas y un cansancio apabullador por la exigencia de responsabilidades académicas y de nuestro trabajo diario como profesionales, gracias por su apoyo.

A los **pacientes** que donaron sus piezas dentales, el presente estudio permitirá proponer alternativas terapéuticas siempre buscando el bien de ayudarlos.

A los **miembros del jurado** por sus comentarios y sugerencias.

## Dedicatoria

### **A mi pareja:**

Édipo, gracias tu apoyo, la distancia no ha sido un impedimento para continuar con nuestros proyectos, al contrario, ha sido motivo de inspiración, esfuerzo y dedicación para que cada día cuente, eres mi compañero quien siempre tiene el valor de hacer lo correcto, la fortaleza, la alegría y la perseverancia que tienes, se irradia a quienes tenemos el gusto de conocerte. Sin tus consejos y comprensión no lo hubiera podido lograr, estoy en deuda contigo y con nuestra Fridita, a bien solo nosotros sabremos cómo podemos retribuir este gran esfuerzo en conjunto.

### **A mi padre:**

Julio, gracias por tu amor y apoyo, que Dios nos permita continuar aterosando momentos juntos, aún nos falta mucho por disfrutar, aún en la distancia se que puedo contar contigo.

**A mis sobrinos:** David, Emiliano, Emmanuel, Mateo, Luis Enrique, gracias por enseñarme que la vida es más divertida cuando estoy con su compañía.

**A Ceci:** Quien es un gran apoyo y guía durante toda mi vida, siempre me has cuidado y mientras yo esté estaré al pendiente de ti.

## **In Memoriam**

*En honor a mi Madre Evelia, mi mejor amiga, te estaré eternamente agradecida, tu amor continúa guiándome, en la retina de mi memoria han quedado grabadas todas tus enseñanzas.*



# INDICE

TABLA DE CONTENIDO	PÁGINA
DEDICATORIA	7
INDICE	8
RESUMEN	11
SUMMARY	12
ABREVIATURAS Y SIGLAS	13
I. INTRODUCCIÓN	14
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
III. MARCO TEÓRICO	18
3.1 GENERALIDADES DE LA COMPOSICIÓN DENTAL	18
3.1.2 ESMALTE	19
3.1.3 DENTINA	19
3.1.4 PULPA DENTAL	20
3.1.5 COMPLEJO PULPO DENTINARIO	22
3.1.6 ESTRUCTURAS DE SOPORTE DENTAL	23
3.1.7 APORTE VASCULAR	23
3.2 MECANISMOS ENDÓGENOS DE ANALGESIA	24
3.2.1 MECANISMO TRIGEMINAL DE NOCICEPCIÓN	26
3.2.2 NEURONAS AFERENTES PRIMARIAS	26
3.2.3 GENERALIDADES DEL SISTEMA NERVIOSO	27
3.2.4 NEUROANATOMÍA DEL NERVIO TRIGÉMINO	28
3.2.5 DIVISIONES DEL NERVIO TRIGÉMINO	28
3.3 EXPRESIÓN DE PÉPTIDOS RELACIONADOS AL DOLOR Y ANALGESIA EN EL DIENTE	29
3.3.1 PÉPTIDO RELACIONADO AL GEN CALCITONINA	30
3.3.2 INTRODUCCIÓN A LAS FUNCIONES ANTINOCICEPTIVAS DE LA OXITOCINA	32
3.3.3 ANTECEDENTES DE LA MODULACIÓN PERIFÉRICA ANTINOCICEPTIVA DE LA OXITOCINA	33
3.3.4 RECEPTORES INVOLUCRADOS EN LA ANTINOCICEPCIÓN MEDIADA POR OXITOCINA	34
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	35
V. HIPÓTESIS DE TRABAJO	35
VI. OBJETIVOS	35
6.1 GENERAL	35
6.2 ESPECÍFICOS	35
VII. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	35
7.1.1 DEFINICIÓN DEL UNIVERSO	36

7.1.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA	36
7.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	36
7.1.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	36
7.1.5 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	37
7.1.6 CONSIDERACIONES BIOÉTICAS	37
7.1.7 SELECCIÓN DE FUENTES, TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	38
7.1.8 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA	39
7.1.9 INMUNOFLUORESCENCIA DE LAS FIBRAS AFERENTES PRIMARIAS	40
7.1.10 MICROSCOPIA CONFOCAL Y ANÁLISIS DE IMÁGENES	41
VIII. RESULTADOS	42
8.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA	42
8.2 FOTOGRAFÍAS POR ZONAS CORONAL, MEDIA Y APICAL DE PULPA DENTAL DE CGRP Y OTR.	52
8.3 EXPRESIÓN DEL OTR Y CGRP EN LA PULPA DENTAL, MICROSCOPIA CONFOCAL	52
IX. DISCUSIÓN	57
X. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	59
XI. BIBLIOGRAFÍA	60
XII. ANEXOS	71
12.1 FORMATOS DE REGISTRO Y APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN	71
12.2 CARTA DE PARTICIPACIÓN UNIVERSIDAD DE LASALLE BAJÍO	73
12.3 CONSENTIMIENTO INFORMADO	74
12.4 CUESTIONARIO COVID-19	78

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
FIGURA 1. EL DIENTE Y SU ESTRUCTURA DE SOPORTE	18
FIGURA 2. COMPLEJO DENTINO-PULPAR	20
FIGURA 3. EL ODONTOBLASTO Y LAS ZONAS DE LA PULPA DENTAL	22
FIGURA 4. EXPRESIÓN DE CGRP EN FIBRAS NERVIOSAS DE LA PULPA DENTAL	32
FIGURA 5. PROCESAMIENTO DE PULPA DENTAL	40
FIGURA 6. MARCAJE CGRP EN PULPA DENTAL SANA	44
FIGURA 7. MARCAJE OTR EN PULPA DENTAL SANA	46
FIGURA 8. MARCAJE CGRP PULPA DE DIENTES CON CARIES	47
FIGURA 9. MARCAJE OTR EN PULPA DENTAL DE DIENTES CON CARIES	48
FIGURA 10. MARCAJE CGRP Y OTR EN PULPA EN DIENTES CON PULPA SANA Y CARIES POR ZONAS.	50
FIGURA 11. MARCAJE OTR Y CGRP TOTAL DE DATOS AGRUPADOS	51
FIGURA 12. FOTOGRAFÍAS MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA ZONA CORONAL PULPA SANA Y CARIES	52
FIGURA 13. FOTOGRAFÍAS MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA ZONA MEDIA DE PULPA SANA Y CARIES	50
FIGURA 14. FOTOGRAFÍAS MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA ZONA APICAL DE PULPA SANA Y CARIES	51
FIGURA 15. MICROSCOPIA CONFOCAL DE UNA SECCIÓN DE PULPA CORONAL, INMUNOFLUORESCENCIA RECEPTOR OXITOCINA (OTR), PÉPTIDO RELACIONADO AL GEN CALCITONINA (CGRP)	52
FIGURA 16. IMAGEN DE MICROSCOPIA CONFOCAL DE UNA SECCIÓN DE PULPA SANA ZONA CORONAL DENTINA Y PREDENTINA	54
FIGURA 17. IMAGEN DE MICROSCOPIA CONFOCAL DE UNA SECCIÓN DE PULPA SANA EN ZONA CORONAL DENTINA Y PREDENTINA	55
FIGURA 18. IMAGEN DE MICROSCOPIA CONFOCAL DE UNA SECCIÓN DEL TERCIO MEDIO DE LA PULPA DENTAL SANA	56

## INDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS AFERENTES PRIMARIAS	25
TABLA 2. MARCAJE DE CGRP POR ZONAS EN PULPA DENTAL SANA Y EN DIENTES CON CARIES.	49
TABLA 3. MARCAJE DE OTR POR ZONAS EN PULPA DENTAL SANA Y EN DIENTES CON CARIES.	49

## RESUMEN

Las interacciones entre los diferentes elementos celulares dentro del complejo dentino pulpar permiten postular mecanismos homeostáticos que determinan el estado funcional de las piezas dentales. En este sentido, la presencia en pulpa dental del péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP), que es capaz de activar las fibras nerviosas, podría indicar la presencia de daño en la estructura dental. Por otro lado, recientemente se ha demostrado que la oxitocina, un péptido que tiene una amplia distribución, produce potentes efectos analgésicos a través de la activación de su receptor (OTR). Por lo que, el presente trabajo es una aproximación al estudio de la presencia del CGRP y el OTR sobre las fibras nerviosas de la pulpa dental, que transmiten el dolor. Se utilizaron muestras de terceros molares, a los cuales les fue extraída la pulpa dental, posteriormente fueron congeladas con isopentano y se realizaron cortes de 20  $\mu\text{m}$  en un criostato. Los tejidos se procesaron con técnicas de inmunofluorescencia para la detección de CGRP y el OTR en la pulpa dental. Además se obtuvieron imágenes de la pulpa dental por medio de microscopia confocal observando la co-localización del CGRP y OTR, principalmente en la porción coronal, aunque también se encontró en otras porciones de este complejo. Estos resultados podrán ayudar a generar oportunidades terapéuticas en el área odontológica para el tratamiento del dolor.

**Palabras clave:** receptor de oxitocina, pulpa dental en humano, péptido relacionado al gen calcitonina, dolor dental.

## **SUMMARY**

The interactions between the different cellular elements within the dentin-pulp complex allow us to postulate homeostatic mechanisms that determine the functional state of the teeth. In this sense, the presence of calcitonin gene-related peptide (CGRP), a molecule that activates nerve fibers, could indicate possible severe damage to dental structure. On the other hand, oxytocin, a widely distributed peptide, has recently been shown to produce potent analgesic effects through the activation of its receptor (OTR). Due to this, the present work approximates the study of the CGRP and the OTR on the nerve fibers of the dental pulp, which transmit pain. Samples of third molars were used, from which the dental pulp was extracted, later they were frozen with isopentane and 20  $\mu\text{m}$  cuts were made in a cryostat. The tissues were processed with immunofluorescence techniques for the detection of CGRP and OTR in the dental pulp. In addition, images of the dental pulp were obtained by confocal microscopy, observing the co-localization of CGRP and OTR, mainly in the coronal portion, although it was also found in other portions of this complex. These results could help generate therapeutic opportunities in the dental area for the treatment of pain.

**Keywords:** oxytocin receptor, human dental pulp, calcitonin gene-related peptide, dental pain.

## **ABREVIATURAS Y SIGLAS**

CGRP	Péptido relacionado al gen calcitonina
DAG	Diacilglicerol
IP3	Inositol trifosfato
OTR	Receptor de oxitocina
OXT	Oxitocina
PLC	Fosfolipasa C
PKC	Proteína quinasa C
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
NPV	Núcleo paraventricular
SP	Sustancia P
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico
SNE	Sistema nervioso entérico
VPM	Núcleo ventro posteromedial del tálamo
VPL	Núcleo ventro posterolateral del tálamo

## I. INTRODUCCIÓN

Para entender al dolor Williams y Craig en 2016 lo definen como: una experiencia angustiosa asociada con daño tisular real o potencial con componentes sensoriales, emocionales, cognitivos y sociales, siendo esta una modificación de la definición dada por la IASP (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor).

En odontología una de las razones más comunes para buscar atención dental es el dolor y/o disfunción que afecta a los tejidos periodontales (Gremillion, 2002).

La pulpa dental se localiza en un ambiente rígido que proporciona un soporte mecánico y protección contra el ambiente oral, si esta cubierta rígida pierde su integridad estructural se tendrán, como consecuencia, cambios de presión en la cámara pulpar, provocando una vasodilatación.

Estos cambios están mediados por neuropéptidos y, en el tejido dental humano se han identificado una variedad de neuropéptidos como la sustancia P (SP) el cual fue el primer neuropéptido identificado seguido de la neuroquinina A, la neuroquinina K, el neuropéptido Y, el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el péptido relacionado al gen calcitonina (CGRP) (Uddman, 1986).

Desde hace más de 36 años se tienen estudios de subgrupos de fibras sensoriales dentales que contienen al CGRP, la SP y la neuroquinina A. Estas fibras tienen terminaciones nerviosas en la pulpa, principalmente en la porción coronal, en la dentina, a lo largo de los vasos sanguíneos de la pulpa y en los tejidos periodontales (Byers, 1990).

La distribución de neuropéptidos en la pulpa dental como el CGRP es más extensa en el plexo subodontoblástico, asociado con largos troncos nerviosos (Rodd, 1998), la inervación de la pulpa y dentina han sido estudiadas también en dientes deciduos utilizando anticuerpos contra el CGRP, en dónde se han observado fibras nerviosas distribuidas desde el ápice hacia la región coronal, en dónde la mayoría de las fibras nerviosas terminan en la capa del odontoblasto (Egan, 1996).

Varios estudios han demostrado que las fibras sensoriales nerviosas en animales y humanos presentan ramas en la corona pulpar, mientras que en su parte terminal presenta fibras delgadas no mielínicas, esto en el plexo de la pulpa periférica, en la capa odontoblástica, en la preentina y en los túbulos dentinarios más profundos (Byers, 1984).

La gran mayoría de las fibras nerviosas son sensoriales pero algunas son fibras simpáticas y se encuentran especialmente a lo largo de vasos sanguíneos en la pulpa central (Byers, 1994). Con base en lo anterior, el diagnóstico del dolor pulpar es complejo. Esto es, en parte, porque hay dos tipos de fibras nerviosas aferentes dentro de la pulpa que se activan de diferentes maneras, las fibras A $\delta$  mielínicas que pueden ser estimuladas por frío, calor o por la presión ejercida con instrumentos rotatorios, producen un dolor bien localizado, y las fibras no mielínicas, también llamadas fibras C, producen un dolor sordo y pobremente localizado (Ngassapa, 1996).

Debido a lo mal localizado del dolor, la búsqueda de moléculas con efectos analgésicos que ayuden a prevenir o aliviar el dolor dental es indispensable. Condés-Lara y col., en 2003 describieron que la oxitocina administrada en neuronas del asta dorsal de la médula espinal en animales como la rata, bloquea la acción excitatoria del glutamato. Estos resultados concuerdan con otros estudios, donde la oxitocina administrada de manera intratecal o liberada por la estimulación del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo, disminuían la entrada de estímulos nociceptivos a la médula espinal en modelos electrofisiológicos (Rojas-Piloni y col., 2012).

Por otra parte, el efecto analgésico podía ser bloqueado si se administraba previamente el antagonista específico para la oxitocina (Miranda-Cárdenas y col., 2006). También, se ha observado que la acción analgésica de la oxitocina puede interactuar con otros sistemas de analgesia endógena (Condés-Lara, Rojas-Piloni, 2012). Además, la oxitocina aplicada en forma peridural en el hombre tiene un



potente efecto analgésico comparable al de los opiáceos (Condés-Lara y col., 2016a, 2016b).

Esto es interesante ya que, en los pacientes anestesiados, los cambios en la presión no se alteran cuando se aplica la oxitocina, previamente, en los sitios de incisión. Además, el tiempo de recuperación son menores (Zayas-González y col., 2019), también se verificó que la oxitocina aplicada en la piel tiene un efecto analgésico (Sorg, 2017).

El mecanismo propuesto para la acción de la oxitocina es el de la inhibición presináptica de neuronas gabaérgicas que generan una acción inhibitoria sobre las fibras aferentes primarias y por la inhibición de oxitocina (Martínez-Lorenzana y col., 2021). Por otra parte, se ha documentado la existencia del receptor para oxitocina en fibras aferentes primarias que contienen CGRP (González-Hernández y col., 2017), éste es un neuropéptido altamente expresado en la pulpa dental que contribuye a la inflamación neurogénica y dolor orofacial como en condiciones que incluyen la pulpitis y migraña (Michot, 2021). Este dato es importante ya que desde la periferia la oxitocina puede estar regulando la entrada sensorial, generada por el CGRP.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los problemas dentales a pesar de que son previsibles constituyen una carga importante en el sector de la salud en la mayoría de los países y pueden afectar a las personas causando dolor y molestia. Con base a la tasa mundial de morbilidad Burden of oral disorders (Wang, 2023) estas enfermedades a nivel mundial afectan aproximadamente a más de 3000 millones de personas, siendo el trastorno más frecuente la caries en dientes permanentes, las enfermedades periodontales, cáncer bucal entre otros, por lo que el dolor dental es frecuente y genera sufrimiento en el ser humano con implicaciones socioeconómicas que impactan en la calidad de vida y afecta en el rendimiento de la persona.

El dolor orofacial es la principal causa de la consulta clínica odontológica, pero hasta el momento no se cuenta con tratamientos eficaces para eliminar o controlar el dolor posterior a una infección o procedimiento dental. Sin embargo, se sabe que las fibras nerviosas que inervan las piezas dentales contienen una alta cantidad de CGRP, que es una molécula implicada en la generación y preservación de estados dolorosos. Es por eso que la identificación del CGRP dentro del complejo dentino pulpar es necesaria para generar una estrategia analgésica efectiva.

Por otra parte, no existen antecedentes que refuercen la presencia del OTR, dentro del complejo dentino pulpar, recordando que el OTR tiene como función llevar a cabo las acciones analgésicas de la oxitocina. Es por eso que la identificación del OTR dentro de este complejo es de suma importancia, ya que podría ser capaz de ser una alternativa a los tratamientos clásicos para tratar las afecciones dentales.

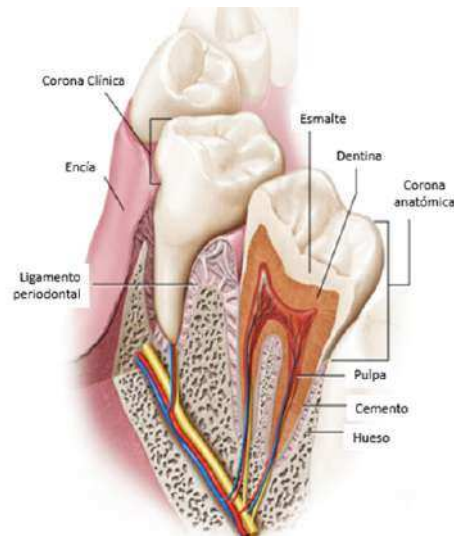
### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Generalidades de la composición dental

Los dientes constituyen aproximadamente el 20% del área de superficie de la boca, anatómicamente los dientes sanos, están compuestos por una corona clínica y pueden ser unirradiculares y multirradiculares. La corona clínica es visible en la cavidad oral y la o las raíces están rodeadas por el hueso alveolar de la mandíbula o maxilar (Naranjo, 2013).

Los dientes están formados por un tejido acelular, mineralizado, inerte que es el esmalte, la dentina que es menos mineralizada que el esmalte, la pulpa dental y estructuras de soporte (Figura. 1), que proporcionan flexibilidad para resistir a las fuerzas de la masticación como el cemento radicular, el ligamento periodontal y el hueso alveolar (Lacruz, 2017).

Figura 1. El diente y su estructura de soporte



Tomado de Nanci, A (2013) *Ten Cate's oral histology: development, structure, and function. 8<sup>th</sup> Edition, Elsevier.*

### **3.1.2 Esmalte**

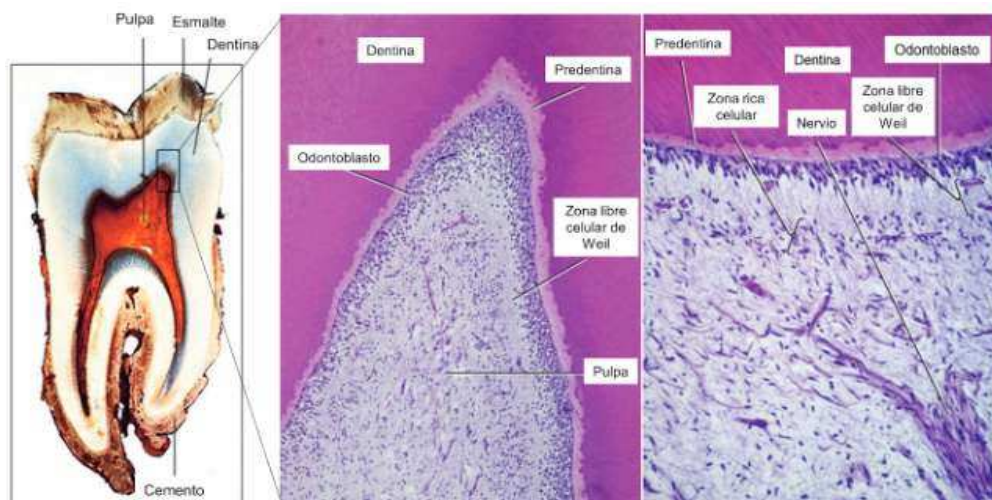
El esmalte es un tejido duro y mineralizado, el cual cubre la superficie de la corona del diente, con una matriz orgánica de 0.6-2% y su dureza se debe a que posee en un 95% una matriz inorgánica, compuesta por cristales de hidroxiapatita constituidos por fosfato de calcio (Lacruz, 2017). La estructura básica del esmalte son los prismas del esmalte tienen un espesor máximo de 2 a 2.5mm, su origen inicia desde la unión cemento esmalte hasta la superficie del diente, los prismas del esmalte guardan un paralelismo completo homogéneo formando la mayor parte del tejido tisular, los prismas del esmalte tienen apariencia cristalina, lo cual permite que la luz pase a través de ellos (Naranjo, 2013), debajo del esmalte se encuentra la dentina y la parte más interna es la pulpa dental.

### **3.1.3 Dentina**

La dentina es un tejido avascular mineralizado, es de color blanco amarillento y rodea la cámara pulpar, el esmalte recubre a la dentina en su porción coronal y en la región radicular está cubierto por el cemento radicular.

La dentina está compuesta en un 50% materia inorgánica que son por cristales de hidroxiapatita, el 30 % de materia orgánica compuesto por fibras de colágeno y el 20% de agua (LeGeros, 1990), la célula formadora de dentina se llama odontoblasto (Figura. 2), el cual está compuesto por un cuerpo celular alineado a lo largo de la capa interna de la dentina.

Figura 2. Complejo dentino-pulpar



Tomado de Ten Cate's oral histology (2013): development, structure, and function. 8<sup>th</sup> Edition, Elsevier.

La dentina se clasifica: 1) por su desarrollo: en dentina primaria, secundaria y terciaria, 2) por su localización: dentina del manto, dentina circumpulpar y dentina radicular, 3) por su mineralización: en dentina peritubular, intertubular, interglobular. La dentina primaria se forma durante el desarrollo del diente hasta que los dientes erupcionan en la cavidad oral (Thesleff, 2009), se secreta a una velocidad alta y forma la mayor parte de la dentina del diente, tiene una estructura regular y contiene los túbulos dentinarios que forman una curvatura primaria en forma de "S" por el movimiento direccional de los odontoblastos. La dentina secundaria, se sintetiza a una velocidad más lenta, tiene una estructura menos regular que la anterior, se deposita durante el resto de la vida del diente, por último la dentina terciaria llamada también dentina reparadora se deposita como consecuencia de un proceso patológico (Goldberg, 2011).

### 3.1.4 Pulpa dental

La pulpa dental está situada dentro de las paredes rígidas de dentina mineralizada, está delimitada en un pequeño compartimiento con un volumen equivalente a 0.2 ml de tejido en los dientes, puede ser estimulada por agentes que activan

nociceptores, puede ser recolectada de los pacientes, siendo un modelo útil para estudiar los nociceptores trigeminales (Castillo-Silva, 2019).

La pulpa dental y la dentina forman la unidad llamada complejo dentino-pulpar y los odontoblastos son el elemento básico de esta unidad, se localizan en la periferia del tejido pulpar con extensiones a la parte interna de la dentina, la dentina no es producida por los odontoblastos y la pulpa dental depende de la protección del esmalte y dentina (Taintor, 1981).

La pulpa dental es un tejido conectivo, histológicamente (Figura. 3b), se distinguen 4 zonas desde corona hacia apical : 1) zona odontoblástica en la periferia pulpar, 2) zona libre celular debajo de los odontoblastos, el cual es prominente en la pulpa coronal, 3) zona rica celular que se encuentra por debajo de la zona libre celular, 4) centro pulpar que se caracteriza por contener vasos y nervios de la pulpa (Roumbouts, 2017).

Dentro de los elementos celulares se encuentra el odontoblasto, el fibroblasto, las células mesenquimales indiferenciadas, los macrófagos y otros elementos celulares del sistema inmunológico (Hahn, 2007).

El odontoblasto siendo la célula distintiva de la pulpa dental forma una capa en la periferia de la pulpa y tiene unas prolongaciones que se extienden hasta la dentina (Runch, 1998), el número de odontoblastos corresponde al número de túbulos dentinarios presentes, en la porción coronal su cuerpo celular es cilíndrico con dimensiones de 15-20 nm de diámetro y 0.5 - 1 um de longitud son más cuboidales en la parte apical, su contenido celular es un núcleo, citoplasma basófilo, prominente aparato de Golgi (Sasaki, 1996).

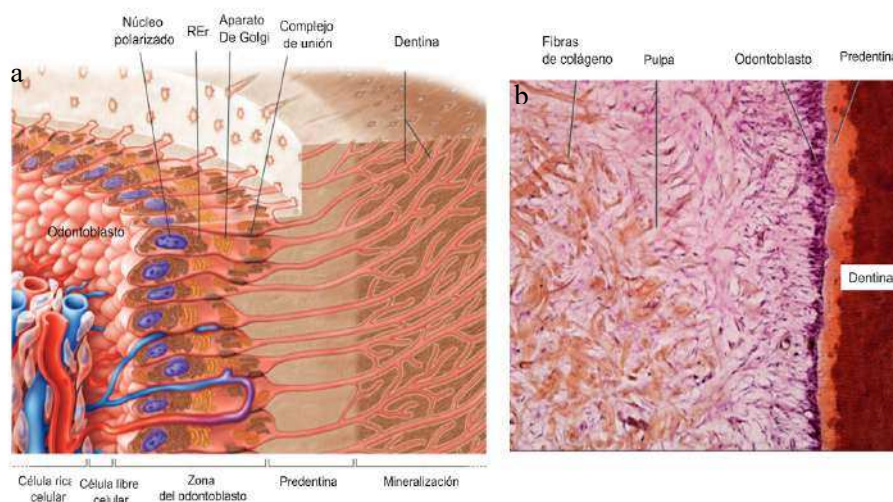
El túbulo dentinal y su contenido otorga a la dentina su vitalidad y habilidad para responder a varios estímulos, con una significancia clínica al momento de realizar algún tipo de cavidad dental (Lisi, 2003). El fibroblasto es el mayor componente celular de la pulpa localizándolo en la zona rica en células, es responsable de

mantener la matriz pulpar por medio de la formación de colágeno (Álvarez-Vázquez, 2022).

### 3.1.5 Complejo pulpo dentinario

La capa celular externa de la pulpa es la capa de odontoblastos, localizada subyacente a la predentina, los odontoblastos atraviesan la predentina para llegar a la dentina. Las características del odontoblasto son las siguientes: en la porción coronal de la pulpa dental tienen una forma cilíndrica, de altura variable; el núcleo no se encuentra al mismo nivel debido a que están alineados de forma escalonada, esta organización hace que parezca que las capas tengan tres a cinco células aunque realmente sólo hay una capa de odontoblastos (Hashemi-Beni, 2017). La capa odontoblástica de la pulpa coronal contiene más células por unidad de área que la de la pulpa radicular, los odontoblastos de la pulpa coronal madura son cilíndricos y los de la porción media de la pulpa radicular son más cúbicos (Figura. 3a), cerca del foramen apical, los odontoblastos aparecen como un estrato escamosa de células planas (Orchardson, 2001).

Figura 3. El odontoblasto y las zonas de la pulpa dental



Tomado de Nanci, A (2013) *Ten Cate's oral histology: development, structure, and function. 8<sup>th</sup> Edition, Elsevier.*

### **3.1.6 Estructuras de soporte dental**

El proceso alveolar, el cemento radicular y el ligamento periodontal conforman el aparato de inserción del diente, debido a que el diente realiza constantemente movimientos menores y el hueso alveolar debe responder a la demanda funcional que le imponen las fuerzas de la masticación, el hueso de la pared del alvéolo se remodela constantemente y su organización estructural varía a lo largo de la pared (Ten Cate, 1972).

Las fuerzas generadas durante la masticación, ( $400 \text{ kg/cm}^2$ ) son transmitidas desde la corona del diente vía periodonto (Hagberg, 1987) hacia el tejido óseo donde las cargas son dispersadas, manteniendo un equilibrio en la remodelación del proceso alveolar. El hueso que recubre directamente el alvéolo se denomina hueso alveolar propio, incorporado dentro de este se encuentran los haces de fibras de colágeno del ligamento periodontal (LP). El LP es un tejido conectivo especializado situado entre el cemento radicular y el hueso alveolar propio, las dimensiones en espesor promedio respecto a la edad son de 0.21 mm de 11 a 16 años, de 0.18 mm de 32 a 52 años y de 0.15 mm de 51 a 67 años, mostrando una disminución progresiva con la edad (Wouter, 1997).

### **3.1.7 Aporte vascular**

Los vasos sanguíneos entran a la pulpa dental por medio del foramen apical, el diente es inervado por un gran número de axones mielínicos y no mielínicos, por ejemplo el número de axones que entran en un diente premolar puede alcanzar los 2,000 o más axones y cada axón puede ramificarse para formar múltiples puntos de inervación, en la pulpa dental incluye terminaciones de fibras nerviosas las cuales conducen impulsos sensoriales y neuronas eferentes las cuales proporcionan una modulación de la microcirculación (Sattari, 2010).

Estudios realizados en especímenes descalcificados se han observado numerosos axones a través del plexo de Raschkow's y en la capa odontoblástica dentro de los túbulos dentinarios dispuestos de una forma no aleatoria, donde el pico de la densidad de inervación se observa en el cuerno pulpar (Silverman, 1987). Además



de estas estructuras en estudios de inmunofluorescencia indirecta se ha estudiado el CGRP distribuido en el ligamento periodontal en ratas (Egan, 1996) y cuando las ramas del nervio alveolar inferior llegan al ápice dental algunas fibras entran a la pulpa dental mientras que otras terminan en el ligamento periodontal, otras fibras nerviosas se asocian con vasos sanguíneos localizados cerca de la pared del alveolo, se han realizado también estudios de inmunohistoquímica en ratas realizando procedimientos dentales como pulpotomías con la finalidad de investigar el CGRP y su efecto en la formación del puente dentinario durante el proceso de reparación (Caviedes-Bucheli, 2008), demostrando que las fibras nerviosas del CGRP tienen un papel importante en el desarrollo de la dentina coronal que ésta está expuesta en el ambiente oral (Bassetti, 2018).

### **3.2 Mecanismos endógenos de analgesia**

El dolor representa un sistema sensorial y perceptual complejo de homeostasis compuesto de aspectos afectivos, motivacionales, cognitivos, genéticos y psicológicos, asociado con respuestas neurovegetativas y motoras que participan en la recepción, transmisión y procesamiento de los aferentes nociceptivos (Craig, 2002).

Las neuronas sensoriales periféricas especializadas, conocidas como nociceptores, alertan sobre estímulos externos potencialmente dañinos en la piel al detectar temperaturas, presiones extremas y sustancias químicas relacionadas con lesiones, y convertir estos estímulos en señales eléctricas de largo alcance que se transmiten a centros cerebrales superiores (Dubin, 2010).

Los nociceptores tienen clases de receptores que son activados por medio de moléculas específicas de carácter nocivo, se considera que hay receptores para estímulos térmicos, mecánicos y químicos (Basbaum, 2009), como se mencionó anteriormente las proyecciones axónicas pueden ser clasificadas por su mielinización, diámetro y velocidad de conducción (Tabla 1).

**Tabla 1. Clasificación de las fibras aferentes primarias**

Tipo de fibra	Mielinización	Diámetro	Velocidad de conducción	Función
Fibra A $\alpha$	Mielinizadas	12-20 $\mu$ m	70-120 m/s	Propiocepción, estiramiento husos musculares
Fibra A $\beta$	Mielinizadas	6-12 $\mu$ m	30 a 70 m/s	Información nociceptiva, responden al tacto superficial
Fibra A $\delta$	Poco mielinizadas	2-5 $\mu$ m	5 a 30m/s	Información nociceptiva, sensación punzante bien definida
Fibra C	No mielinizadas	0.4- 1.2 $\mu$ m	0.1-1.4 m/s	Información nociceptiva, sensación dolorosa, sorda y continua.

*Clasificación de las fibras aferentes primarias por: tipo de fibra, mielinización, diámetro, velocidad de conducción y función.*

La nocicepción surge como consecuencia de una lesión tisular y se transmite a través de las fibras nerviosas aferentes primarias, el SNP responde a estímulos potencialmente nocivos transduciendo, transmitiendo y modulando la señal nociceptiva, los nociceptores son neuronas aferentes primarias y sus cuerpos celulares se localizan en los ganglios de la raíz dorsal y en los ganglios trigeminales, estas son de tipo pseudounipolar las cuales tienen un axón que se bifurca en una rama que se dirige al tejido periférico (terminaciones nerviosas libres) y otra rama que se proyecta a las láminas superficiales de la médula espinal (Basbaum y col., 2009).

En las astas dorsales de la médula espinal ocurre el primer sitio de relevo de información nociceptiva, además de las aferencias de las neuronas de primer orden, a las astas dorsales llegan múltiples proyecciones axónicas descendentes provenientes de distintas regiones (Millán, 2002) entre ellas, el sistema sustancia gris periacueductal médula rostroventromedial, núcleos del rafe, el locus coeruleus y el hipotálamo. La información nociceptiva se transmite desde la médula espinal a

sitios supraespinales a través de tractos principales que son: 1) espinotalámico, 2) espinoreticular, 3) espinomesencefálico (Basbaum, 2009). Las neuronas de tercer orden ubicadas en el tálamo tienen eferencias que llegan a múltiples áreas de la corteza cerebral en donde se codifican las dimensiones sensitivas y emocionales del dolor.

### **3.2.1 Mecanismo trigeminal de nocicepción**

El sistema trigeminal está involucrado en un proceso de información nociceptiva proviniendo del nervio trigémino o V par craneal (Kishida, 1985). Este nervio se divide en tres ramas; Oftálmico V1, Maxilar V2, Mandibular V3, cada división representa un dermatoma diferente, los dermatomas de la cara y de la mucosa profunda, vascular, muscular y tejido meníngeo. La división maxilar incluye la piel infraorbital y postorbital, labio superior, lado lateral de la nariz, mucosa maxilar superior y dientes superiores. La rama mandibular suministra inervación a la articulación temporo mandibular, piel de labio inferior, mucosa mandibular intraoral, dientes inferiores y parte anterior de lengua (Okeson, 1999).

El proceso aferente inicia en las fibras nerviosas originadas en neuronas pseudounipolares cuyos axones ingresan al tallo cerebral y terminan en neuronas de segundo orden, ubicadas en el tallo cerebral en la unión bulbomedular, en el núcleo de la raíz descendente del trigémino, específicamente en el subnúcleo *pars caudalis* y en el asta dorsal de los segmentos cervicales c1 y c2, estas estructuras constituyen el complejo trigémino cervical (Bartsch, 2003) que es el principal relevo para los estímulos dolorosos provenientes de la cara y cabeza, una vez activadas estas neuronas emiten proyecciones aferentes a los núcleos ventral posterior-medial, dorsomedial e intralaminar del tálamo y a otros núcleos del tallo cerebral (Cutrer, 2010).

### **3.2.2 Neuronas aferentes primarias**

El dolor surge como consecuencia de una afectación tisular y se transmite a través de las fibras nerviosas aferentes primarias, las dos principales clases de fibras que pueden detectar estímulos nocivos y que tienen una extensa distribución en la piel,

mucosa oral y pulpa dental son las fibras A $\delta$  y fibras C, las fibras A $\beta$  están involucradas en la detección de estímulos que nos son perjudiciales, como la vibración, la propiocepción y pueden encontrarse en el ligamento periodontal, piel y mucosa oral (Middleton, 2022).

La pulpa dental está inervada por fibras aferentes trigeminales mielínicas y amielínicas, la activación de aferentes de la pulpa dental por temperatura, agentes químicos o estímulos mecánicos da como resultando la percepción del dolor (Närh, 1992). En humanos, la pulpa dental está inervada por una proporción significativa de fibras mielínicas de mayor diámetro, algunas de las cuales pueden ser caracterizadas clásicamente como fibras aferentes no nociceptivas fibras A $\beta$ . A diferencia de los tejidos diana hay diferencias en el patrón de inervación de estas 2 clases de neuronas sensoriales en la pulpa dental: los túbulos dentinarios inervados típicamente por fibras aferentes mielínicas (Fibras A $\beta$ ) mientras que las fibras C en la región perivascular o estroma de la pulpa dental (Byers y col., 2002).

### **3.2.3 Generalidades del Sistema Nervioso**

El sistema nervioso autónomo es la parte del sistema nervioso que controla las acciones involuntarias, como los latidos cardíacos, el ensanchamiento o estrechamiento de los vasos sanguíneos, la regulación de la temperatura corporal. El sistema nervioso central (SNC) controla la movilidad voluntaria, es la fuente de nuestros pensamientos, emociones y recuerdos, este sistema está formado por el encéfalo y la médula espinal, tras integrar la información a través de funciones motoras que viajan por nervios del sistema nervioso periférico (SNP), ejecuta una respuesta adecuada (Allen, 2018). El SNP está formado por grupos de neuronas llamadas ganglios y nervios periféricos que con base en su punto de origen existen doce pares craneales que provienen del encéfalo y 31 pares raquídeos procedentes de la médula espinal. En el presente trabajo se enfocará a un par craneal llamado Trigémino (nervio craneal V) el cual provee inervación sensitiva y motora a la cara (Huff, 2022).

### **3.2.4 Neuroanatomía del nervio trigémino**

El nervio trigémino es el nervio del primer arco faríngeo, este nervio consiste en tres ramas en cada lado de la cara que se extiende longitudinalmente, la unión de estas ramas se localizan en el ganglio trigeminal o ganglio de Gasser, el cual se ubica en la cavidad de Meckel de la cavidad craneal, la primera rama del nervio trigémino se llama nervio Oftálmico (V1), la segunda rama nervio maxilar (V2) y la tercera rama nervio mandibular (V3) (Zuurmond, 1996).

El nervio trigémino es mixto: una parte sensorial y otra motora, la sensorial es la responsable de la transmisión de aferentes somáticos generales desde la cara, es decir, dolor, temperatura, vibración, tacto fino y propiocepción. La parte motora está encargada de la inervación a los músculos de la masticación, incluidos los temporales, los pterigoideos, el masetero y algunos músculos más pequeños: el tensor del velo del paladar, el tensor palatino vientre anterior del digástrico y el músculo milohioideo (Price, 2022).

### **3.2.5 Divisiones del nervio trigémino**

Rama Oftálmica (V1): La rama oftálmica es la primera rama del nervio trigémino en orden rostral-caudal, desde el ganglio trigeminal cruza la pared lateral del seno cavernoso y luego pasa a través de la fisura orbitaria superior hacia la órbita, donde se divide en tres ramas terminales: el nervio lagrimal, el nervio frontal y el nervio nasociliar (Edvinsson, 2020).

Es la rama responsable de la inervación sensorial de la cara y el cráneo por encima de la fisura palpebral, así como del ojo, partes de la cavidad nasal, cuerpos ciliares, iris, glándula lagrimal, conjuntiva, córnea así como también porción superior de la cavidad nasal, seno frontal, estructuras más profundas de la duramadre y porciones de la fosa craneal anterior, arterias cerebrales en el polígono de Willis, nervio meníngeo recurrente (nervio recurrente de Arnold), alcanzando los senos venosos transversales y rectos (Larrier, 2003). Los estímulos nocivos para los receptores

sensoriales intracraneales son traducidos en mayor parte por la rama oftálmica porque las ramas maxilar y mandibular proporcionan inervación solo a una extensión limitada de las meninges (Goadsbye, 2017).

Rama Maxilar (V2): Es la segunda rama del nervio trigémino, tiene un trayecto intracranealmente hacia la duramadre de la fosa craneal media, los dientes superiores, el paladar, la membrana del seno maxilar, la cavidad nasal y la glándula lagrimal. Es un nervio sensorial inerva la piel del párpado inferior, el pliego nasolabial, el labio superior y la mejilla (Anastasi, 2010).

Rama Mandibular (V3): La rama mandibular V3 pasa entre el tensor del velo del paladar y el pterigoideo lateral. La continuación del nervio mandibular se divide en un tronco anterior y otro posterior. El tronco anterior da ramas a tres músculos principales de la masticación y una rama bucal, que proporciona inervación sensorial a la mejilla. La división posterior emite tres ramas sensoriales principales, los nervios auriculotemporal, lingual y alveolar inferior y fibras motoras para inervar el milohioideo y el vientre anterior del músculo digástrico (Burchiel, 2003).

Proporciona inervación sensorial de la mucosa bucal, los dientes mandibulares y la piel debajo de la boca. La porción motora de V3 inerva todos los músculos de la masticación (Donnet, 2017).

### **3.3 Expresión de péptidos relacionados al dolor y analgesia en el diente**

Los neuropéptidos se encargan de la regulación homeostática en condiciones inflamatorias y no inflamatorias, regulan el flujo sanguíneo pulpar, participando el CGRP, SP, Neurokinina A, entre otros. El CGRP es el vasodilatador endógeno más potente (Brain, 1997) y ocupa el 50% de las neuronas del sistema trigeminal (Raddant, 2011). Además es un neuropéptido localizado en las fibras tipo C del tejido pulpar, participa en actividades neurotróficas y neurotrópicas y regula la presencia de antígenos dentro del sistema inmune (Staquet, 2008).

Estudios de inmunohistoquímica en diferentes especies animales (Uddman, 1986) han demostrado la inmunoreactividad de fibras nerviosas en la pulpa dental, además otros estudios han revelado que la pulpa dental tiene un rico suministro de fibras nerviosas positivas a acetilcolinesterasa y adrenérgicos. Así mismo se ha demostrado la presencia de fibras nerviosas que contienen el VIP, SP y NPY en varios mamíferos incluyendo el hombre (Uddman, 1980).

### **3.3.1 Péptido relacionado al gen calcitonina**

El CGRP es un neuropéptido de 37 aminoácidos producido por neuronas del sistema nervioso central y del sistema nervioso periférico, con diversas funciones fisiológicas. Sus dos isoformas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) los cuales difieren en 3 aminoácidos en humanos, se expresan ampliamente en todo el cuerpo, en las neuronas sensoriales, así como en las neuronas motoras y las células neuroendocrinas. El CGRP actúa a través de al menos dos receptores acoplados a proteína G que forman complejos inusuales con proteínas modificadoras de la actividad del receptor (Russo, 2023).

Este neuropéptido también interactúa con diferentes poblaciones de células inmunorreguladoras, tales como macrófagos, modulando su función e induciendo la liberación de mediadores inflamatorios incluyendo citoquinas, prostaglandinas, y tromboxanos (Kangarlou, 2010).

El CGRP está localizado principalmente en las fibras sensoriales A- $\delta$  el cual tiene una amplia inervación a todo el cuerpo, y también en las fibras tipo C están cercanamente asociadas en la microcirculación pulpar. En ratas la mayoría del receptor de potencial transitorio V1 (TRPV1) se expresa en aferentes de la pulpa siendo positivas para CGRP (Chung, 2013), lo cual sugiere la posibilidad que algunas aferentes peptidérgicas puedan transmitir el dolor por cambios térmicos y así una lesión dental induce una proyección terminales aferentes peptidérgicas liberando CGRP (Byers, 2002).

La activación de TRPV1 expresa una amplia, rápida y robusta respuesta de la inflamación neurogénica que precede la infiltración de células del sistema inmune

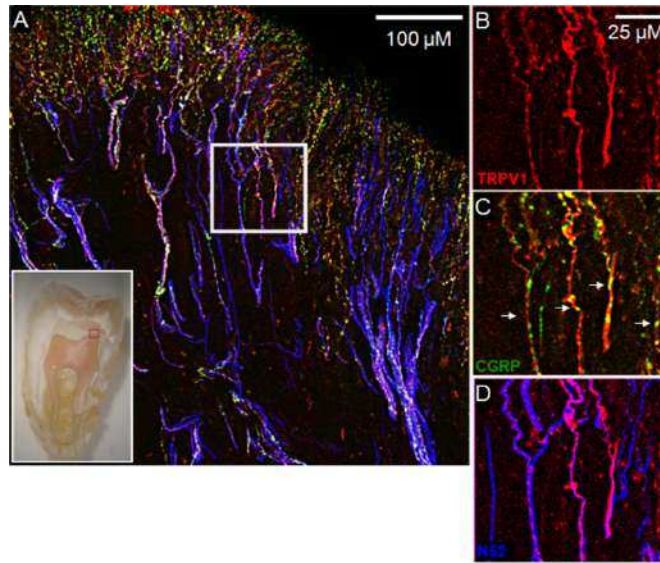
innato, los neuropéptidos que contienen neuronas sensoriales liberan péptidos como SP, VIP y CGRP. Se cree que la liberación de estos péptidos pueden ser los responsables del inicio y el mantenimiento de la inflamación neurogénica, los efectos vasculares permiten una vasodilatación y extravasación plasmática, estos neuropéptidos se conocen por tener efectos inmunomoduladores en las células inmunes, demostrando una posible vía de producción de citoquinas antiinflamatorias (Baliu-Pique, 2014).

Investigaciones de inmunohistoquímica de la pulpa dental humana y animal han revelado que los vasos sanguíneos pulpares presentan una variedad de nervios que expresan neuropéptidos como SP, Neuroquinina A, CGRP, VIP, neuropéptido Y, somatostatina, galanina (Byers, 1994). Además las técnicas de doble marcaje han demostrado que ciertos vasos sanguíneos en realidad reciben una inervación peptidérgica dual, pareciera que las fibras que expresan CGRP, NKA y SP tiene un patrón similar de vasos pulpares grandes (40  $\mu\text{m}$  de diámetro).

La estimulación mecánica y térmica nociva, así como la activación química de las neuronas sensoriales, provoca la liberación periférica y central de SP y CGRP (Flores, 2001) estos hallazgos sugieren que la liberación de SP y/o CGRP de las terminales nerviosas sensoriales es un indicador fisiológico de la señalización nociceptiva. En un estudio (Rodd, 2003), se identificó por medio de técnicas histológicas con Inmunofluorescencia (Figura. 4), la localización de los moduladores nociceptivos en las neuronas sensoriales que inervan la pulpa dental.



Figura 4. Expresión de CGRP en fibras nerviosas de la pulpa dental



Tomado de Fehrenbacher, J. C., Sun, X. X., Locke, E. E., Henry, M. A., & Hargreaves, K. M. (2009). Capsaicin-evoked iCGRP release from human dental pulp: a model system for the study of peripheral neuropeptide secretion in normal healthy tissue. *Pain*, 144(3), 253–261.

### 3.3.2 Introducción a las funciones antinociceptivas de la oxitocina

La oxitocina (OT) es una hormona nonapéptica que se libera dentro del SNC por el núcleo hipotalámico paraventricular y núcleo supraóptico (Swanson, 1981). La OT está constituida por nueve aminoácidos (cisteína, tirosina, isoleucina, glicina, asparagina, glutamina, prolina, leucina y glicina), un grupo amino terminal y un puente de azufre entre las dos cisteínas, es una hormona asociada al parto y a la secreción láctea, funciona como un analgésico endógeno y exógeno (Lundeberg, 1984).

Los productos peptídicos maduros de la OT y su molécula transportadora neurofisina, son unidades básicas funcionales, la neurofisina está relacionada con el empaquetamiento y almacenamiento de la OT antes de ser liberada de las terminales axónicas al torrente sanguíneo para actuar como hormona (Gimpi y col., 2001), se ha caracterizado un receptor selectivo para OT, el receptor OTR está presente en varias regiones del cerebro: el área cortical, el sistema olfatorio, los

ganglios basales, el sistema límbico, el tálamo, el hipotálamo, el tallo cerebral y la médula espinal (Swanson, 1981).

### **3.3.3 Antecedentes de la modulación periférica antinociceptiva de la oxitocina**

Se tiene evidencia limitada en humanos que sugiere que la oxitocina tiene el potencial de modular la transmisión somatosensorial, en específico la percepción del dolor. Por ejemplo dos estudios separados encontraron que las concentraciones de oxitocina eran significativamente más bajas entre los niños de la misma edad y sexo que experimentaban dolor abdominal recurrente en comparación con los niños sin dolor (Alfven, 1994, 2004).

En otro estudio clínico se menciona que los pacientes que sufren dolor lumbar agudo y crónico reducen el reporte del dolor después de recibir oxitocina vía intratecal (Yang, 1994). Así mismo otro estudio clínico ha reportado que los pacientes con síndrome de colon irritable exhibieron menor incomodidad visceral por la administración de oxitocina intravenosa (Louvel, 1996), en una muestra de mujeres sanas sometidas a pruebas de dolor psicofísico, se reveló que los niveles de oxitocina en plasma se asociaron con una reducción de la tolerancia al dolor por el frío nocivo y los estímulos isquémicos (Grewen, 2008).

Por otro lado en un estudio que incorporó la inhalación de dosis bajas de oxitocina un grupo de personas sin dolor que recibieron al azar oxitocina informaron menos dolor por el pinchazo en el dedo en comparación con el grupo que inhaló un agente placebo (Uryvaev, 1996). Finalmente la administración intranasal de oxitocina se relacionó de manera dependiente de la dosis en la disminución de la frecuencia y la intensidad del dolor de cabeza en personas con presentaron migraña crónica (Wang, 2013).

La OT ha emergido como una molécula interesante para inducir analgesia a nivel espinal no solamente en modelos de dolor en animales, si no también en humanos

(Condés-Lara 2016). Por lo que se ha apuntado la posible participación de los canales de calcio en la analgesia periférica mediada por oxitocina (Quiu, 2014).

De esta manera se ha sugerido que la OT inhibe la transmisión sensorial que llega a las neuronas del asta dorsal, excitando interneuronas espinales inhibitorias y/o en una acción directa. La oxitocina endógena y exógena así como la estimulación del núcleo paraventricular, suprimen selectivamente la actividad conducida por las aferentes A $\delta$  y fibras C en las células del asta dorsal de la médula espinal (Condés-Lara, 2006, Rojas- Piloni, 2007). La importancia del presente proyecto radica en la descripción del receptor de oxitocina en pulpa dental debido a que son pocas las evidencias de su acción a nivel periférico en la inervación del trigémino.

### **3.3.4 Receptores involucrados en la antinocicepción mediada por oxitocina**

El receptor de OT tiene 7 dominios transmembranales  $\alpha$  hélice acoplados a una proteína Gq/11, proteínas de unión GTP que promueven la activación de una fosfolipasa C (PLC), que da lugar a la generación de inositol trifosfato (IP3) y 1,2 diacilglicerol (DAG). El IP3 desencadena la liberación de Ca<sup>++</sup> del almacén intracelular, mientras que el DAG estimula a proteína quinasa C (PKC), que fosforila a proteínas blanco identificadas (Gimpi-Fahrenheit, 2001).

Los receptores de oxitocina están presentes en varias regiones del cerebro: área cortical, en el sistema olfatorio, en los ganglios basales, el sistema límbico, el tálamo, el hipotálamo, el tallo cerebral y la médula espinal en las capas superficiales del asta dorsal, la sustancia gris central, intermedio medial (IMM), intermedio lateral (IML), niveles torácicos y lumbares T8-L2 torácico lumbares, T12-S1 y lumbosacros (Reiter y col., 1994). Estos péptidos se involucran en diferentes funciones fisiológicas como: actividad cardiovascular, respiración, alimentación, interacciones sociales y más recientemente en la nocicepción.

#### **IV. Pregunta de investigación**

¿Existe colocalización de OTR y CGRP en pulpa dental de dientes sanos o con caries?.

#### **V. Hipótesis de trabajo**

El receptor de oxitocina (OTR) colocaliza con el péptido relacionado al gen calcitonina (CGRP) en pulpa dental de humano con caries y sin caries.

#### **VI. Objetivos**

##### **6.1 General**

Determinar la presencia del péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP) y el receptor de oxitocina (OTR), en pulpa dental de terceros molares sanos y que presenten caries.

##### **6.2 Específicos**

1. Mostrar evidencia de la colocalización de CGRP y OTR mediante técnicas de inmunofluorescencia en pulpa dental sana y con caries.
2. Determinar la intensidad de marcaje de CGRP y OTR mediante la digitalización de imágenes en pulpa dental sana y con caries.
3. Identificar la colocalización de CGRP y OTR en la zona coronal, la zona media y en la zona apical en pulpa dental sana y con caries.

#### **VII. Diseño de investigación**

Estudio Observacional Descriptivo Transversal

### **7.1.1 Definición del universo**

Pacientes atendidos en la clínica de Odontología de la Universidad de La Salle Bajío, del servicio de Cirugía Maxilofacial programados para extracción de terceros molares.

### **7.1.2 Tamaño de la muestra**

Muestreo por conveniencia. Para este estudio se incluyeron un total de cinco individuos programados para procedimiento quirúrgico de extracción de terceros molares, 3 terceros molares sanos y 3 terceros molares con caries, clínica y radiográficamente fueron inspeccionados por un profesional de la salud oral se excluyeron 4 pulpas dentales debido al retiro parcial de la pulpa dental.

### **7.1.3 Criterios de inclusión**

Edad de 18 a 35 años, sexo indistinto, se programaron para extracción quirúrgica de terceros molares superiores o inferiores. Individuos que decidieron firmar la carta de consentimiento informado.

### **7.1.4 Criterios de exclusión**

Mujeres embarazadas, mujeres bajo tratamiento de reemplazo hormonal, alcoholismo o alguna otra droga de abuso, que cursaron con alguna infección aguda o crónica, que estuvieron bajo tratamiento farmacológico por infecciones al momento de la valoración, dientes con enfermedad periodontal o en tratamiento con ortodoncia.

### **7.1.5 Criterios de eliminación**

Individuos que se retiraron de la investigación, imposibilidad de procesar la muestra, parcialidad en la toma de la muestra, pulpa dental incompleta.

### **7.1.6 Consideraciones bioéticas**

Este proyecto de investigación se sometió a evaluación por parte del comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), siendo aprobado y registrado (Anexo 12.1) con el número de registro 14490, a continuación se continuó con la recolección de muestras de tejido dental en el Servicio de Cirugía Maxilofacial de la Universidad de La Salle Bajío Campus Campestre (UDLSB) (Anexo 12.2), de la misma forma, el análisis del tejido o biomaterial humano del presente proyecto fue evaluado y aceptado por parte del Comité de Ética en Investigación del Instituto de Neurobiología (INB) con el número de registro 103.H.

De acuerdo a lo establecido en la declaración de Helsinki promulgado por la Asociación Médica Mundial (AMM), durante el transcurso del proyecto se mantuvo como prioridad el bienestar e integridad de cada uno de los participantes.

Al inicio del estudio se llevó a cabo la correspondiente sesión informativa para explicar la dinámica del estudio y posteriormente se cuestionó de manera individual a los sujetos si era su deseo el formar parte y participar en el proyecto, y a quienes accedieron se les solicitó la firma voluntaria del consentimiento informado (Anexo 12.3) y se realizó un cuestionario COVID-19 (Anexo 12.4).

Fueron establecidas fechas con horarios distintos para realizar la historia clínica y para la toma de muestras. Absolutamente toda la información que se obtuvo se almacenó y analizó de forma estrictamente confidencial.

La toma de muestras se realizó empleando las barreras de protección: empleo de cubrebocas N95, guantes, bata desechable, gorro desechable, careta de

protección. En cada paciente se usó equipo nuevo, instrumental estéril, la eliminación de los residuos biológicos se realizó por una empresa especializada en el manejo y desechos biológicos, de acuerdo con la Norma NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002.

Los individuos participaron de manera voluntaria, en el cual donaron las piezas dentales extraídas (terceros molares) para su análisis posterior, no recibieron ningún estímulo económico.

### **7.1.7 Selección de fuentes, técnicas y procedimientos de recolección de información**

Para la toma de muestra, la Universidad de La Salle Bajío Campus Campestre, proporcionó: los materiales y kit de instrumental básico de cirugía, kit de protección para paciente y odontólogo.

Para el procesamiento de muestra el Instituto de Neurobiología de la UNAM Campus Juriquilla, Laboratorio B-16 proporcionó el material y equipos para el presente proyecto:

Material para el almacenamiento y procesamiento de la muestra: vial de almacenamiento, paraformaldehído, buffer fosfatos, sacarosa, tissue tek, hielo seco, portaobjetos, cubreobjetos, xilol, resina acrílica, caja de almacenamiento para portaobjetos.

Anticuerpos primarios; Anti-OTR Oxytocin-R (C-4): sc- 515809; Santa Cruz Biotechnology Inc. Para el CGRP, el Anticuerpo utilizado fue utilizado el anticuerpo Anti-CGRP Anticuerpo A-11008; ThermoFisher scientific.

Anticuerpos secundarios; A-21422 Anti-mouse IgG (H+L) Cross Adsorbed Secondary Antibody (Alexa Fluor™ 555); Thermo Fisher Scientific, A-1108; Goat Anti Rabbit IgG (H+L) Cross Adsorbed Secondary Antibody (Alexa Fluor™ 488) Invitrogen, USA.

Equipo de criocorte para obtención de cortes: Crisotato Leyca Biosystems.

Equipo para Análisis Histológico: Microscopio de epifluorescencia para la obtención de imágenes en un plano y Microscopio confocal.

Programas para análisis de imágenes y procesamiento de datos: Zenn 3.6 (Zen Lite), Image J, Graph Pad Prism versión 10.0.3.

### **7.1.8 Procesamiento de la muestra**

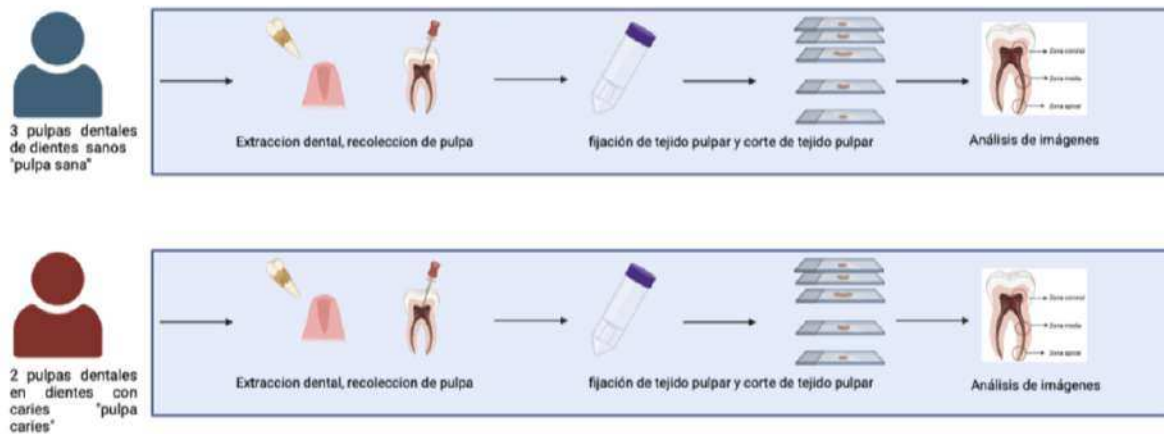
Una vez realizado el interrogatorio directo en el que no se evidencian antecedentes personales ni familiares de relevancia, conociendo los beneficios, posibles complicaciones y de acuerdo con los hallazgos clínico-radiográficos, se procedió a realizar el procedimiento quirúrgico dental.

1. El anestésico utilizado fue 1.8 ml de lidocaina al 2% y 1/100,000 diluido en epinefrina, bloqueando el nervio alveolar inferior y bucal, una vez realizada la extracción quirúrgica de terceros molares, se procedió a realizar irrigación extraoral de cada uno de los dientes durante 30 segundos con solución fisiológica para eliminar restos de sangre.
2. Cada diente se colocó en solución de paraformaldehído al 4% y en Buffer Fosfatos (PB) a 0.2M con un pH 7.4, durante 4 horas posteriormente se dejó en refrigeración introducido por 24 hrs en sacarosa, por un periodo no mayor de 72 horas.
3. De manera extraoral, sobre la cara oclusal del esmalte se realizó el acceso de la cavidad utilizando una pieza de mano de alta velocidad con irrigación y utilizando una fresa de carburo de bola número 4, se realizó la preparación de acceso hacia la cámara pulpar; posteriormente con ayuda de limas endodónticas se realizó el retiro completo del tejido pulpar.



4. El tejido pulpar fue colocado en paraformaldehído al 4% y en Buffer Fosfatos a 0.2 M con un pH de 7.4. Finalmente fue introducido por 24 hrs en sacarosa al 30% en PB. Una vez que se obtuvo el tejido pulpar, estos fueron incluidos en Tissue-Tek® (Sakura Finetek USA, Inc), y congelados con isopentano a -200°C.
  
5. Para realizar los cortes longitudinales de la pulpa dental se utilizó un criostato (Leyca Biosystems), se obtuvieron cortes longitudinales continuos de la pulpa dental de 20 µm de espesor. A continuación se representa (Figura. 5) el procesamiento de la pulpa dental.

Figura 5. Procesamiento de pulpa dental



*Procesamiento de la pulpa dental, recolección, fijación del tejido, obtención de cortes de tejido pulpar en criostato para su posterior análisis histológico por medio de Microscopia de epifluorescencia.*

### 7.1.9 Inmunofluorescencia de las fibras aferentes primarias

Para realizar la inmunofluorescencia se seleccionó la serie de uno de los cortes, primero se colocó el tejido en paraformaldehído al 4% durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de lavar el tejido en buffer fosfato 0.1 M realizamos la primera incubación (24 hrs, temperatura 4°C) en un cóctel con los siguientes anticuerpos primarios; para el receptor de oxitocina fue utilizado el anticuerpo Anti-

OTR Oxytocin-R (C-4): sc- 515809; Santa Cruz Biotechnology Inc., para el CGRP, el anticuerpo utilizado fue Anti-CGRP Anticuerpo A-11008; ThermoFisher scientific, el cual es un anticuerpo policlonal de conejo y reacciona en especies como el humano, ratón y rata, solución 1:200. Posteriormente lavamos con buffer fosfato 0.1 M y los incubamos con el anticuerpo secundario apropiado (24 hrs, temperatura 4°C).

Los anticuerpos secundarios que utilizamos fueron: A-21422 Anti-mouse IgG (H+L) Cross Adsorbed Secondary Antibody (Alexa Fluor <sup>TM</sup> 555) diluido 1:500; Thermo Fisher Scientific, A-1108; Goat Anti Rabbit IgG (H+L) Cross Adsorbed Secondary Antibody (Alexa Fluor <sup>TM</sup> 488) Invitrogen, USA diluido en 1:300.

Posteriormente en el proceso de deshidratación, los cortes fueron colocados e impregnados por un tren de alcoholes de menor a mayor concentración: 70%, 80%, 96% y 100% y por Xilol absoluto. Finalmente se aplicó la resina acrílica con base de xileno (DPX) y encima un cubreobjetos para su conservación.

#### **7.1.10 Microscopía confocal y análisis de imágenes**

Observamos los cortes en un microscopio confocal LSM 510 Meta (Zeiss, México), con objetivos de inmersión 25x/0.8 40x/1.3. Se utilizaron los filtros de fluoresceína, los picos de las longitudes de onda de excitación aproximados fue de 488 nm para el canal 1 (OTR) y de 561 nm para el canal 2 (CGRP). Las imágenes de la pulpa dental fueron procesadas en el programa Zenn 3.6 ZEN lite (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Göttingen, Alemania), cada imagen a un tamaño de 1024 x 1024 pixeles. En el presente trabajo reportamos secciones simples, proyecciones en Z y ortogonales.

El método de captura de imágenes por medio de un software en microscopia de epifluorescencia (Olympus's xCellence software), fueron necesarios para optimizar los tiempos de exposición y obtener un imagen de alta calidad, en base a lo anterior se tomaron fotografías de la pulpa dental de todas las muestras a nivel coronal, medio y apical. Enseguida se realizó la digitalización de las imágenes en el

programa Image J, lo cual permitió extraer información de marcaje de CGRP y OTR de la pulpa dental, se utilizó un análisis de ANOVA de una sola vía para comparaciones múltiples por zonas y para determinar la diferencia de marcaje de CGRP y OTR en dientes con pulpa dental sana y con caries se utilizó una T student no pareada dependiendo los datos, consideramos estadísticamente significativos los datos con una  $p < 0.05$ . El reporte final será entregado con base al formato de Tesis de Posgrado de la Universidad Autónoma de Querétaro.

## **VIII. Resultados**

### **8.1 Análisis descriptivo de la muestra**

La pulpa dental obtenida de terceros molares de los pacientes fue analizada con técnicas histológicas de inmunofluorescencia utilizando anticuerpos fluorescentes específicos anti-CGRP y anti-OTR. Esta preparación de tejido permitió su observación por medio de un microscopio de epifluorescencia y en microscopio confocal para la obtención de imágenes por zonas de la pulpa dental

El presente trabajo fue diseñado de la siguiente forma, se empezó a estudiar los portaobjetos de todos los individuos de pulpa dental de dientes sanos “Pulpa dental sana” en 3 individuos, “Humano 1”, “Humano 2”, “Humano 3”, y de dientes con caries “pulpa dental caries” de 3 individuos “Humano 1”, “Humano 2”, “Humano 3” el último tomado como control en técnicas histológicas.

Se tomaron fotografías de 3 zonas representativas de la pulpa dental de CGRP y OTR de cada individuo, la pulpa dental de la zona más cercana a la corona dental “Zona coronal”, la pulpa dental de la zona media “Zona media”, y la pulpa dental más cercana al ápice “Zona apical”.

A continuación se muestra el marcaje por zonas de CGRP de pulpa dental sana en Humano 1, Humano 2 y Humano 3 (Figura. 6), en la zona coronal en Humano 1, se tiene un promedio de intensidad de marcaje CGRP en el área 1 de 13.898, área 2 un promedio de 116.041, área 3 un promedio de 183.726 y área 4 un promedio de

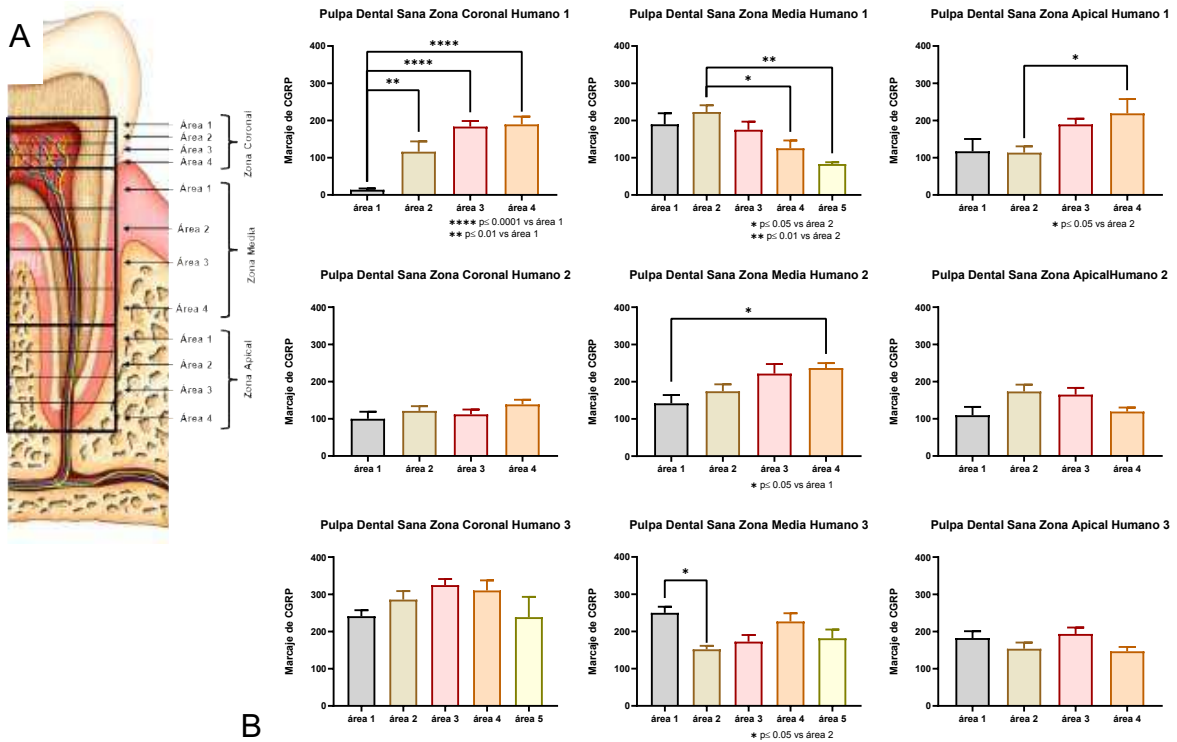
189.557. En la zona media un promedio de intensidad marcaje en el área 1 de 189.756, en el área 2 de 222.829, en el área 3 un promedio de 175.292, en el área 4 un promedio de 125.491 y en el área 5 un promedio de 83.073. En la zona apical el promedio de intensidad de marcaje de CGRP en el área 1 de 158.822, en el área 2 un promedio de 136.487, en el área 3 un promedio de 186.234 y en el área 4 un promedio de 223.842.

La intensidad de marcaje en pulpa dental sana de CGRP en la zona coronal en Humano 2, se tiene un promedio de intensidad de densidad en el área 1 de 100.023, en el área 2 un promedio de 121.162, en el área 3 un promedio de 111.996 y en el área 4 un promedio de 138.684. En la zona media un promedio de intensidad de marcaje de CGRP en el área 1 de 176.313, en el área 2 de 184.591, en el área 3 un promedio de 253.638 y en el área 4 un promedio de 250.984. En la zona apical el promedio de intensidad de marcaje de CGRP en el área 1 de 109.549, en el área 2 un promedio de 173.436, en el área 3 un promedio de 165.038, en el área 4 un promedio de 119.481.

La intensidad de marcaje en pulpa dental sana de CGRP en la zona coronal en Humano 3, teniendo un promedio de intensidad de marcaje en el área 1 de 241.246, en el área 2 un promedio de 285.867, en el área 3 un promedio de 324.643, en el área 4 un promedio de 310.327 y en el área 5 un promedio de 238.755. En la zona media un promedio de intensidad de marcaje de CGRP en el área 1 de 249.884, en el área 2 de 151.874, en el área 3 un promedio de 172.711, en el área 4 un promedio de 226.878, en el área 5 un promedio de 181.684.

En la zona apical el promedio de intensidad de marcaje de CGRP en el área 1 de 182.458, en el área 2 un promedio de 153.83, en el área 3 promedio de 193.546 y en el área 4 un promedio de 146.849. Teniendo una significancia estadística en humano 1 en la zona coronal  $p < 0.0001$  en zona coronal  $p < 0.05$  en zona media y apical en comparación con las las pulpas dentales sanas.

Figura 6. Marcaje CGRP en pulpa dental sana



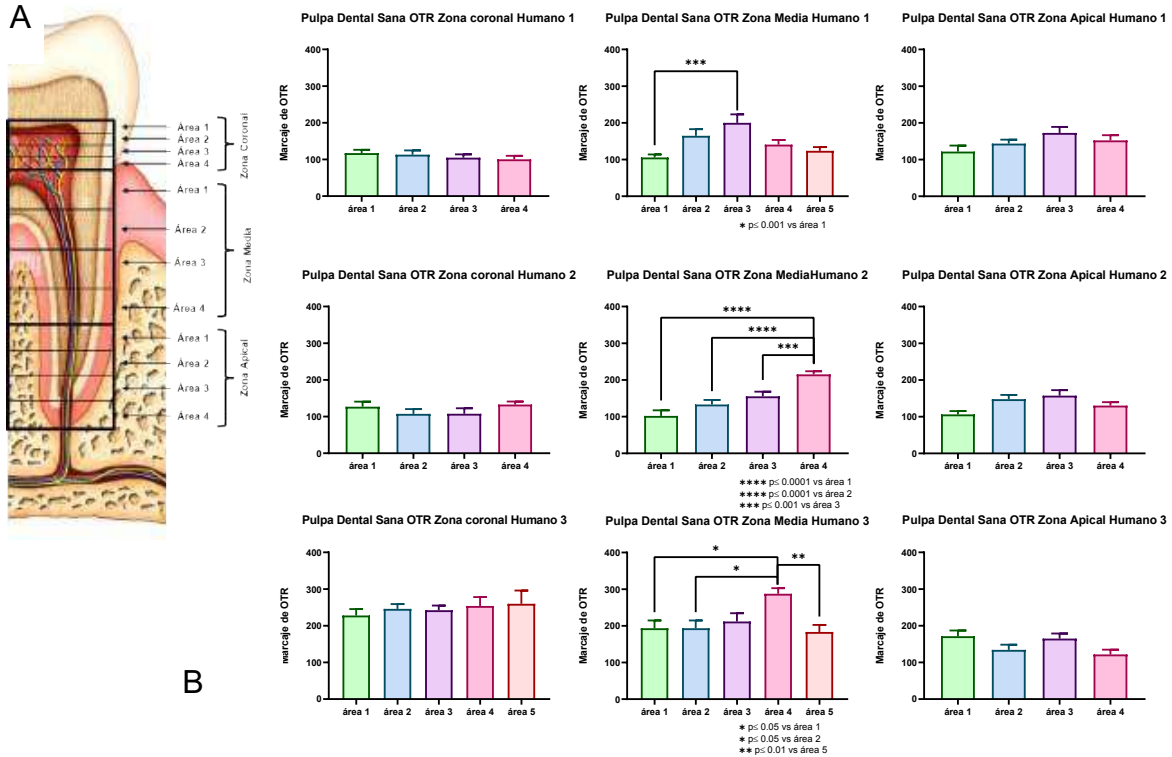
Marcaje de CGRP en pulpa dental sana. A, Representación en un corte coronal las áreas y zonas en la pulpa dental analizadas. B, Gráficas del marcaje de CGRP en zona coronal, media y apical por área, prueba estadística utilizada ANOVA de comparaciones múltiples.

A continuación se graficó el marcaje por zonas de OTR en pulpa dental sana, en la zona coronal en Humano 1, Humano 2 y Humano 3 (Figura. 7), en Humano 1 se tiene un promedio de intensidad de marcaje de OTR en el área 1 de 117.236, en el área 2 un promedio de 113.062, en el área 3 un promedio de 104.883 y en el área 4 un promedio de 100.284. En la zona media un promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 105.738, en el área 2 de 164.726, en el área 3 un promedio de 199.943, en el área 4 un promedio de 140.807 y en el área 5 un promedio de 123.655. En la zona apical el promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 121.851, en el área 2 un promedio de 143.609, en el área 3 un promedio de 172.743 y en el área 4 un promedio de 152.348.

El marcaje de OTR en la zona coronal en Humano 2, teniendo un promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 126.966, en el área 2 un promedio de 107.369, en el área 3 un promedio de 107.754 y en el área 4 un promedio de 132.839. En la zona media un promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 102.032, en el área 2 un promedio de 133.226, en el área 3 un promedio de 155.423 y en el área 4 un promedio de 215.2. En la zona apical el promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 106.302, en el área 2 un promedio de 147.798, en el área 3 un promedio de 157.456 y en el área 4 un promedio de 130.353.

El marcaje de OTR en la zona coronal en Humano 3 teniendo un promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 227.931, en el área 2 un promedio de 245.89, en el área 3 un promedio de 242.205, en el área 4 un promedio de 253.949 y en el área 5 un promedio de 259.732. En la zona media un promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 193.546, en el área 2 de 193.546, en el área 3 un promedio de 211.981, en el área 4 un promedio de 287.463 y en el área 5 un promedio de 183.481. En la zona apical el promedio de marcaje de OTR en el área 1 de 171.457, en el área 2 promedio de 134.146, en el área 3 un promedio de 165.098, y en el área 4 un promedio de 121.676, siendo significativo en la zona media de las 3 pulpas dentales

Figura 7. Marcaje OTR en pulpa dental sana



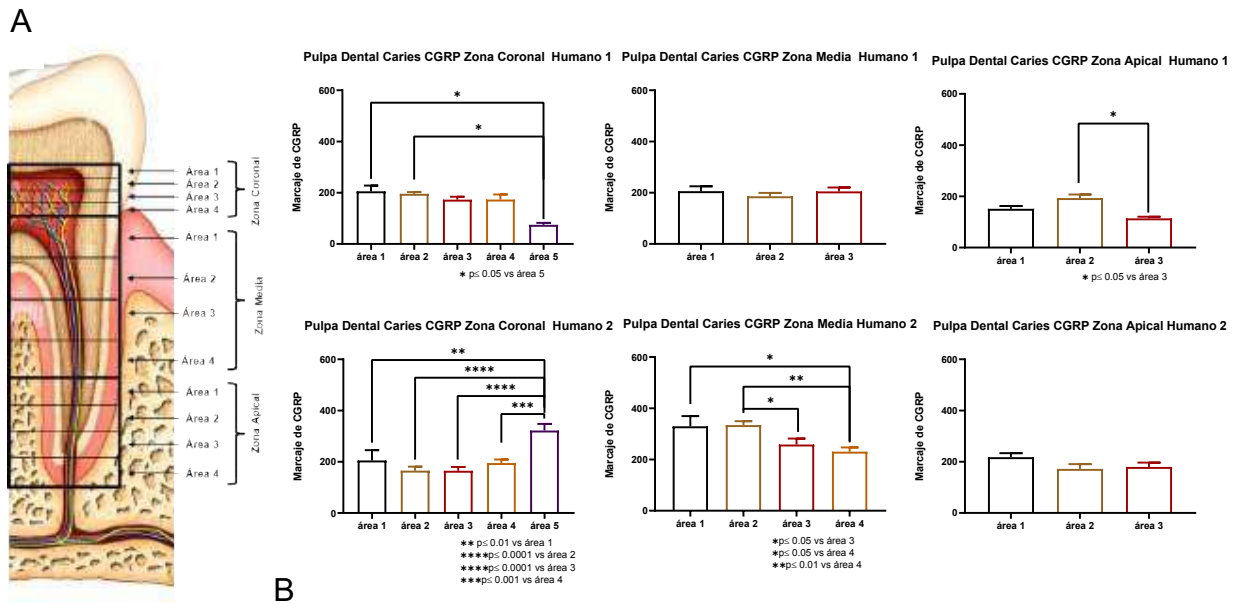
Marcaje de OTR en pulpa dental sana. A, Representación en un corte coronal de las áreas y zonas en la pulpa dental analizadas. B, Marcaje de OTR en zona coronal, media y apical por humano, prueba estadística utilizada ANOVA de comparaciones múltiples.

A continuación se muestra el marcaje global por zonas de CGRP (Figura. 8), de pulpa dental con caries, se representa la intensidad de marcaje de CGRP en la zona coronal en Humano 1 y Humano 2.

Teniendo un marcaje de CGRP en la zona coronal área 1 de 205 en el área 2 195.9, en área 3 173.164, área 4 173.3, en área 5 173.1, en la zona media del área 1 se obtuvo un promedio de 206.002, en el área 2 un promedio de 186.06 y en el área 3 un promedio de 186.06, en la zona apical en el área 1 se obtuvo un promedio de 151, en el área 2 un promedio de 193.259 y en el área 3 un promedio de 114.044 siendo significativo en el área 2 y 3. El marcaje de CGRP en la zona coronal del humano 2 por área en e área 1 fue de 205.218, en el área 2 un promedio de marcaje de 165.418, en el área 3 un promedio de 164.834, en el área 4 un promedio de 194.

802 y en el área 5 un promedio de 322.153, siendo significativos en el área 2,3,4 y 5. En la zona media se tiene un promedio de 329.775, en el área 2 un promedio 334.256, en el área 3 un promedio de 258.342 y en el área 4 un promedio de 230.418. En zona apical sin diferencia estadística en el área 1 con un promedio de 217.818. En el área 2 172.321 y en el área 3 un promedio de 179.682.

Figura 8. Marcaje CGRP pulpa de dientes con caries



Marcaje de CGRP en pulpa dental-caries. A, Representación en un corte coronal de las áreas y zonas en la pulpa dental analizadas. B, Marcaje de CGRP en zona coronal, media y apical por humano, prueba estadística utilizada ANOVA de comparaciones múltiples.

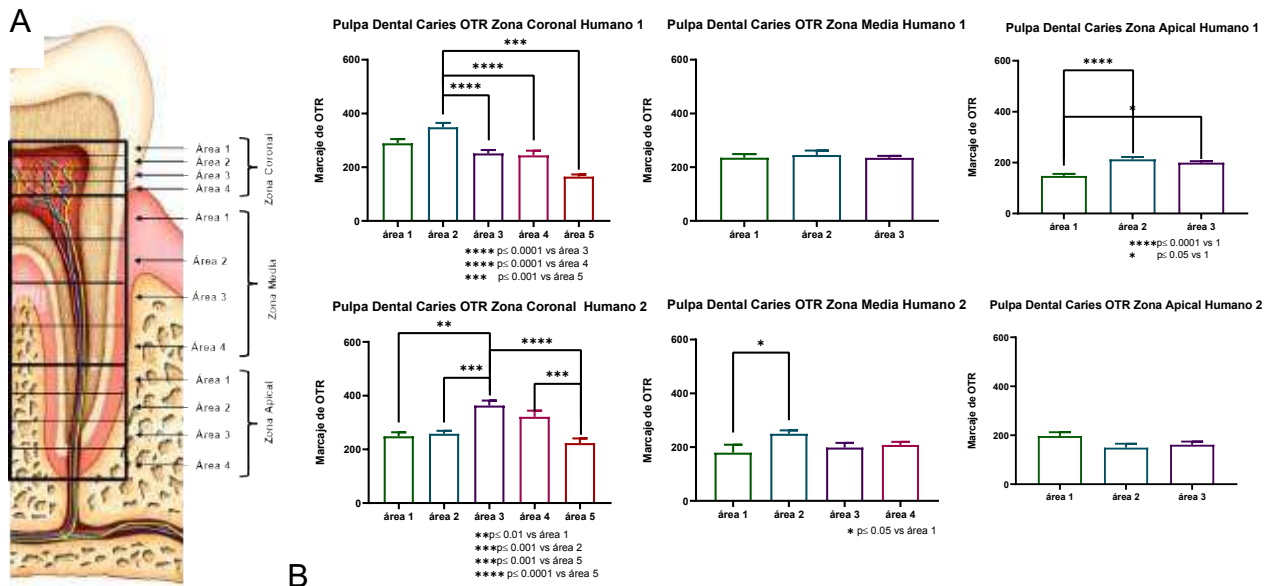
A continuación se el marcaje por zonas de OTR (Figura. 9), de pulpa dental en diente con caries se representa la intensidad de marcaje de OTR en la zona coronal en Humano 1 y Humano 2. En zona coronal del humano 1 se obtuvo un promedio de marcaje por área de 289.074, en el área 2 un promedio de 248. 531, en el área 3 un promedio de 251.441, en el área 4 un promedio de 244. 016 y en el área 5 un promedio de 164.799 teniendo una significancia estadística de área 2 y área 3 y área 2 y 4 de  $p < 0.0001$  y  $p < 0.0005$  del área 2 y del área 5. En la zona media no



se obtuvieron diferencias entre el área 1 con un promedio de marcaje de 235.078, teniendo un promedio de marcaje en área 2 de 245.24 y en área 3 un promedio de 234.879. En zona apical se obtuvo un promedio de marcaje de OTR en área 1 de 147.451, área 2 un promedio de 212. 818 y área 3 un promedio de 199.763.

En zona coronal el marcaje de OTR en el Humano 2 con caries, en área 1 fue de 248.737, área 2 258. 048, área 3 un promedio de 362.92, área 4 un promedio de 321. 337 y área 5 un promedio de 223.32, siendo significativo en área 1 y 3  $p=0.0034$ , área 2 y 3 y respectivamente en el área 3 y área 5  $p<0.0008$ . En la zona media el marcaje de OTR en zona media área 1 fue de 179.243, en el área 2 de 249.801, en el área 3 un promedio de 198.503 y en el área 4 un promedio de 208.156, siendo significativo en el área 1 y 2  $p<0.05$ . En la zona apical el marcaje de OTR en el área 1 obtuvo un promedio de 196.53, en área 2 un promedio de 149.192 y en área 3 un promedio de marcaje de 160.983, sin diferencia estadística en la zona apical.

Figura 9. Marcaje OTR en pulpa dental de dientes con caries



Marcaje de OTR en pulpa dental-carries. A, Representación en un corte coronal de las áreas y zonas en la pulpa dental analizadas. B, Marcaje de OTR en zona coronal, media y apical por humano, prueba estadística utilizada ANOVA de comparaciones múltiples.

Tabla 2. Marcaje de CGRP por zonas en pulpa dental sana y en dientes con caries.

Péptido Relacionado al Gen Calcitonina (CGRP)	Pulpa dental sana Zona coronal	Pulpa dental caries Zona coronal	Pulpa dental sana Zona media	Pulpa dental caries Zona media	Pulpa dental sana Zona apical	pulpa dental caries Zona apical
<b>Datos analizados</b>	203	199	161	105	130	75
<b>Promedio</b>	189	198	198	257	159	182
<b>Prueba de T no pareada</b>						
<b>P valor</b>	0.3707		0.0001		0.0389	
<b>Significancia</b>	NS		***		*	
<b>Significancia estadística</b>	No		Si		Si	

NS= insignificancia estadística, \*  $p \leq 0.05$ , \*\*\*  $p \leq 0.001$

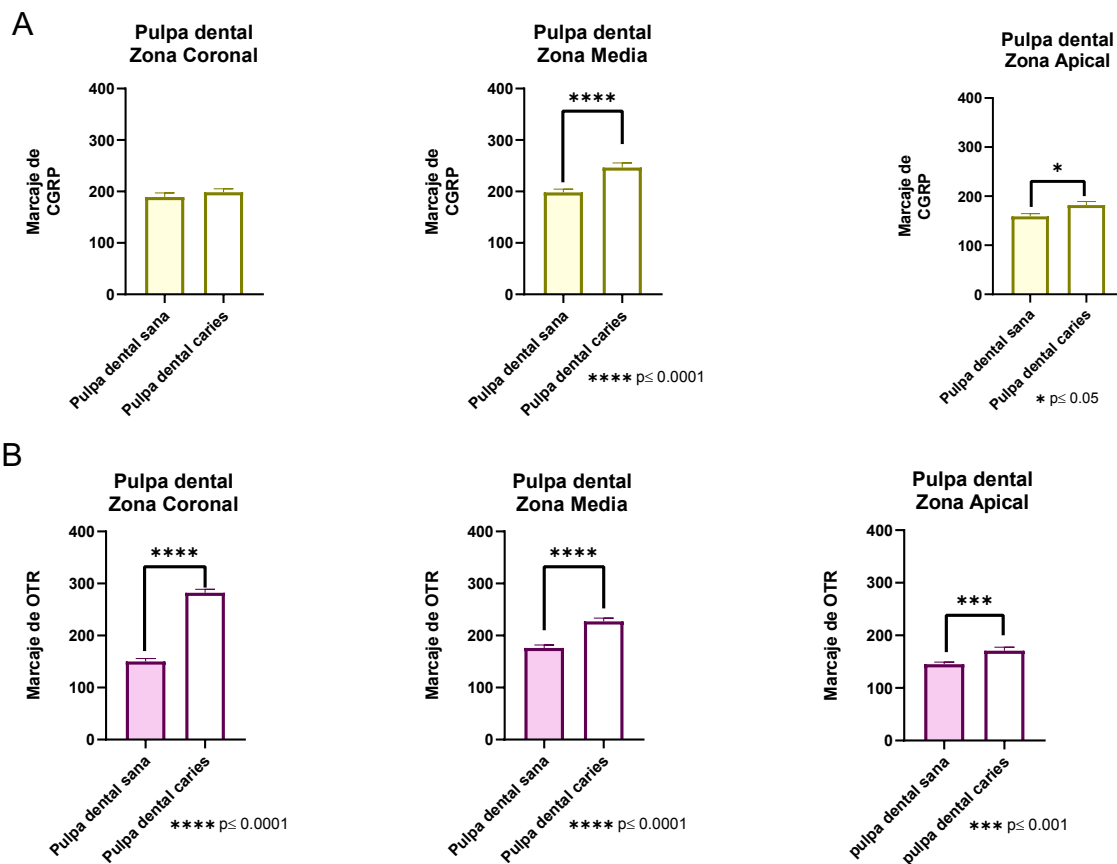
Tabla 3. Marcaje de OTR por zonas en pulpa dental sana y en dientes con caries.

Receptor de Oxitocina (OTR)	Pulpa dental sana Zona coronal	Pulpa dental caries Zona coronal	Pulpa dental sana Zona media	Pulpa dental caries Zona media	Pulpa dental sana Zona apical	Pulpa dental caries Zona apical
<b>Datos analizados</b>	179	212	152	105	142	75
<b>Promedio</b>	150	282	176	227	145	171
<b>Prueba de T no pareada</b>						
<b>P valor</b>	<0.0001		0.0001		0.0094	
<b>Significancia</b>	****		****		**	
<b>Significancia estadística</b>	Si		Si		Si	

\*\*  $p \leq 0.01$ , \*\*\*\*  $p \leq 0.0001$

Posteriormente se agruparon por zonas evaluadas: zona coronal, zona media y zona apical, de pulpa dental sana y pulpa dental con caries (Figura 10), se agruparon todas las muestras (Figura. 11), de pulpa dental sana y caries, así mismo se tomaron fotografías de epifluorescencia de zona coronal en pulpa dental sana y con caries (Figura. 12 ), fotografías de epifluorescencia de zona media en pulpa dental sana y con caries (Figura. 13) y fotografías de epifluorescencia de zona apical en pulpa dental sana y con caries (Figura. 14).

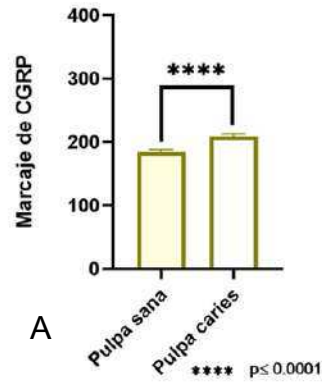
Figura 10. Marcaje CGRP y OTR en pulpa en dientes con pulpa sana y caries por zonas.



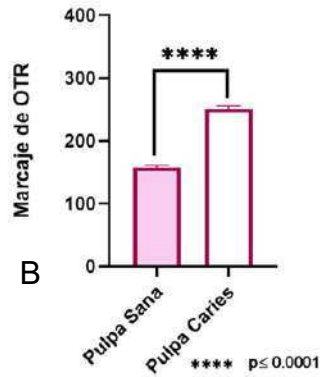
*Marcaje de CGRP y OTR por zonas en pulpa dental sana y pulpa dental- caries. A, Marcaje de CGRP por zonas en pulpa dental sana y caries, prueba estadística utilizada T student no pareada sugiere significancia estadística en zona media y apical. B, Marcaje de OTR por zonas en pulpa dental sana y caries, prueba estadística utilizada T student no pareada, la prueba estadística sugiere marcaje de OTR en zona coronal, media y apical en pulpa dental- caries en comparación con pulpa dental sana.*

Figura 11. Marcaje OTR y CGRP total de datos agrupados

**CGRP de pulpa dental en dientes sanos y dientes con caries**



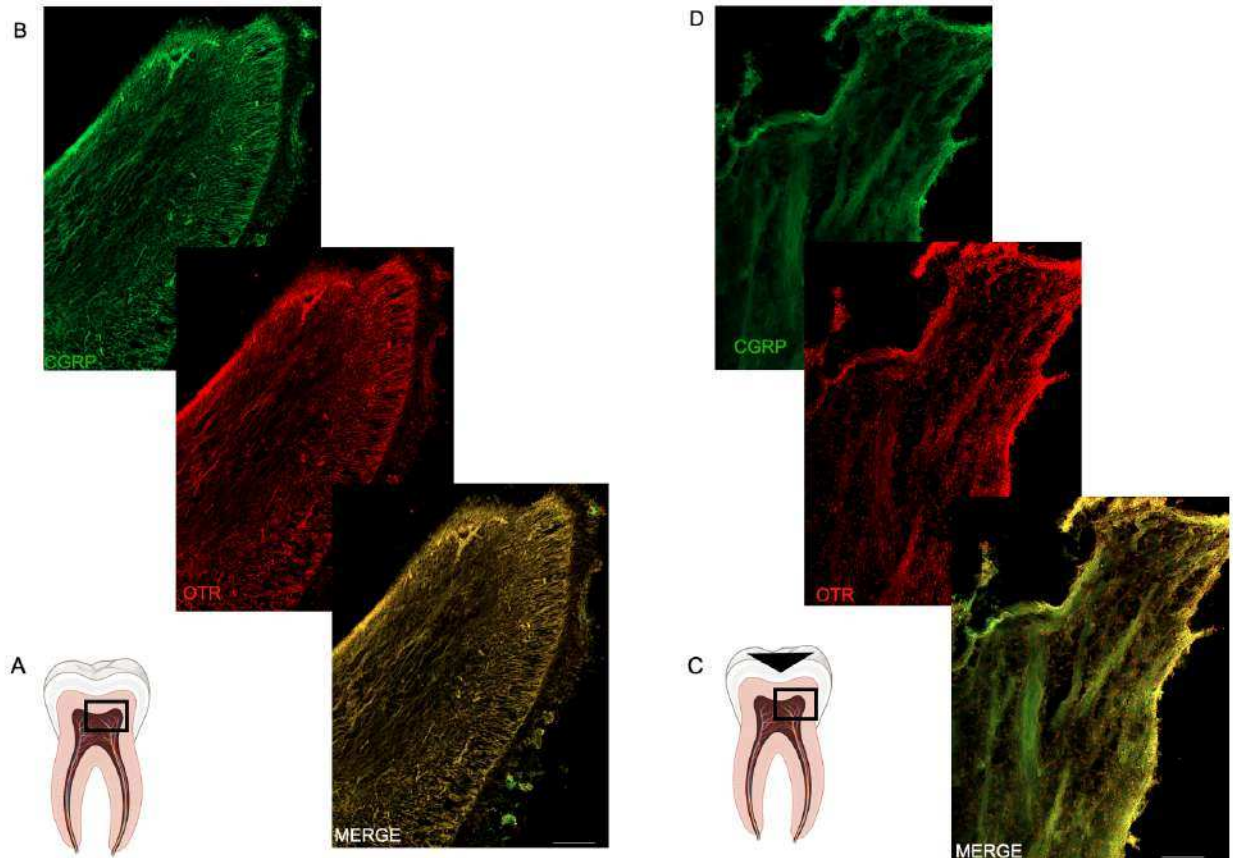
**OTR de pulpa dental en dientes sanos y dientes con caries**



Marcaje de CGRP y OTR por zonas en dientes con pulpa dental sana y pulpa dental- caries, datos agrupados. A, Marcaje de CGRP sana por zonas en pulpa dental sana y caries, prueba estadística utilizada T student no pareada sugiere significancia estadística  $p \leq 0.0001$  en pulpa dental- caries. B, Marcaje de OTR, prueba estadística utilizada T student no pareada, la prueba estadística sugiere significancia estadística  $p \leq 0.0001$  en pulpa dental caries en comparación con pulpa dental sana.

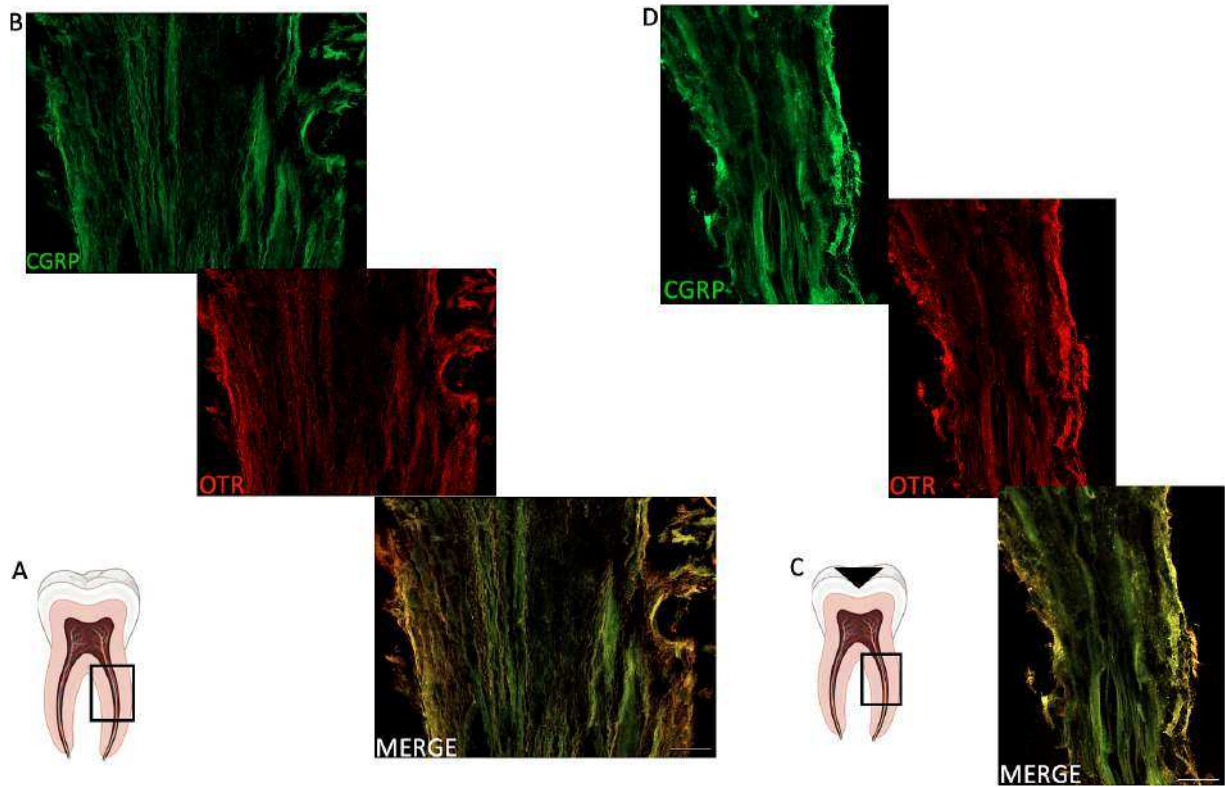
## 8.2 Fotografías por zonas coronal, media y apical de pulpa dental de CGRP y OTR.

Figura 12. Fotografías mediante inmunofluorescencia zona coronal pulpa sana y caries



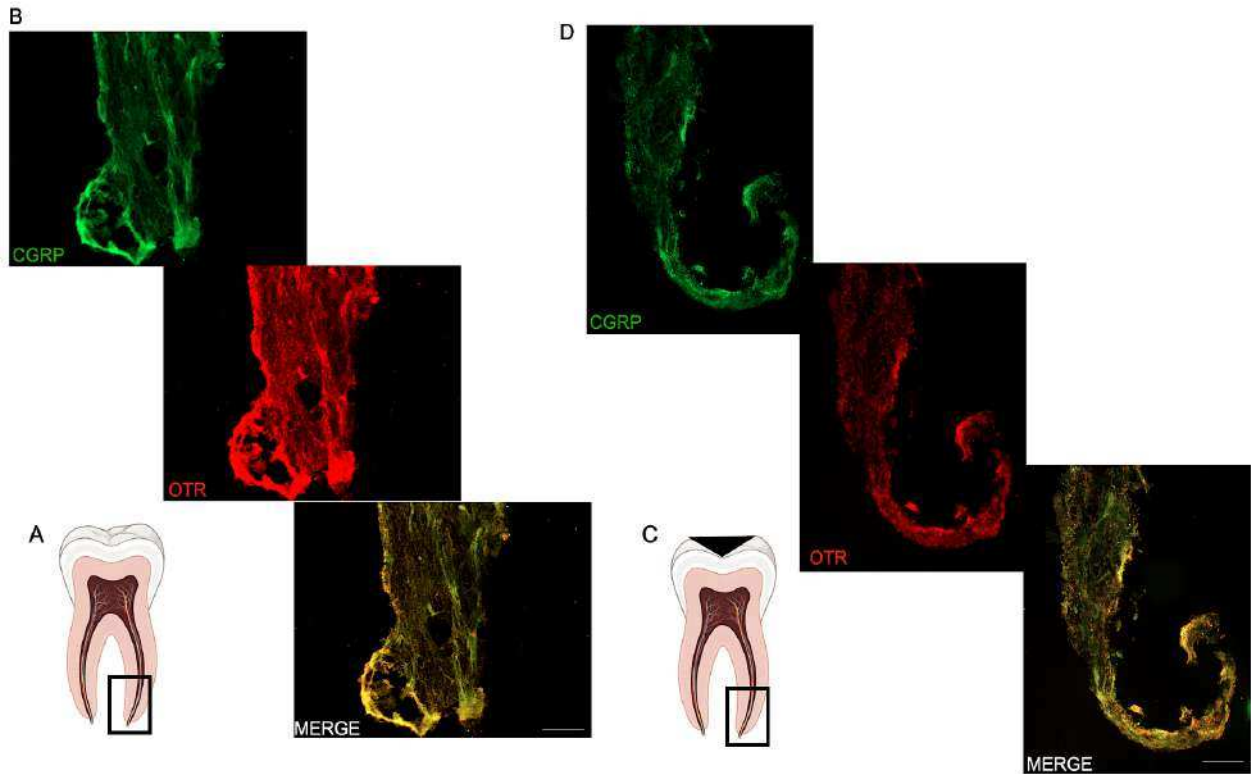
*Fotografías mediante inmunofluorescencia en zona apical de la pulpa dental, CGRP (verde) OTR (rojo). En A se muestra un esquema de un corte sagital de pulpa dental, señalado con un recuadro la zona apical. En B se muestran fotografías de una pulpa sana zona apical, en C se muestra un esquema de una corte sagital de pulpa dental en un diente con caries, en D fotografías tomadas mediante inmunofluorescencia de una pulpa dental zona apical en un diente con caries. aumento 10x.*

Figura 13. Fotografías mediante inmunofluorescencia zona media de pulpa sana y caries



*Fotografías mediante inmunofluorescencia en zona apical de la pulpa dental, CGRP (verde) OTR (rojo). En A se muestra un esquema de un corte sagital de pulpa dental, señalado con un recuadro la zona apical. En B se muestran fotografías de una pulpa sana zona apical, en C se muestra un esquema de una corte sagital de pulpa dental en un diente con caries, en D fotografías tomadas mediante inmunofluorescencia de una pulpa dental zona apical en un diente con caries. Aumento 10x.*

Figura 14. Fotografías mediante inmunofluorescencia zona apical de pulpa sana y caries



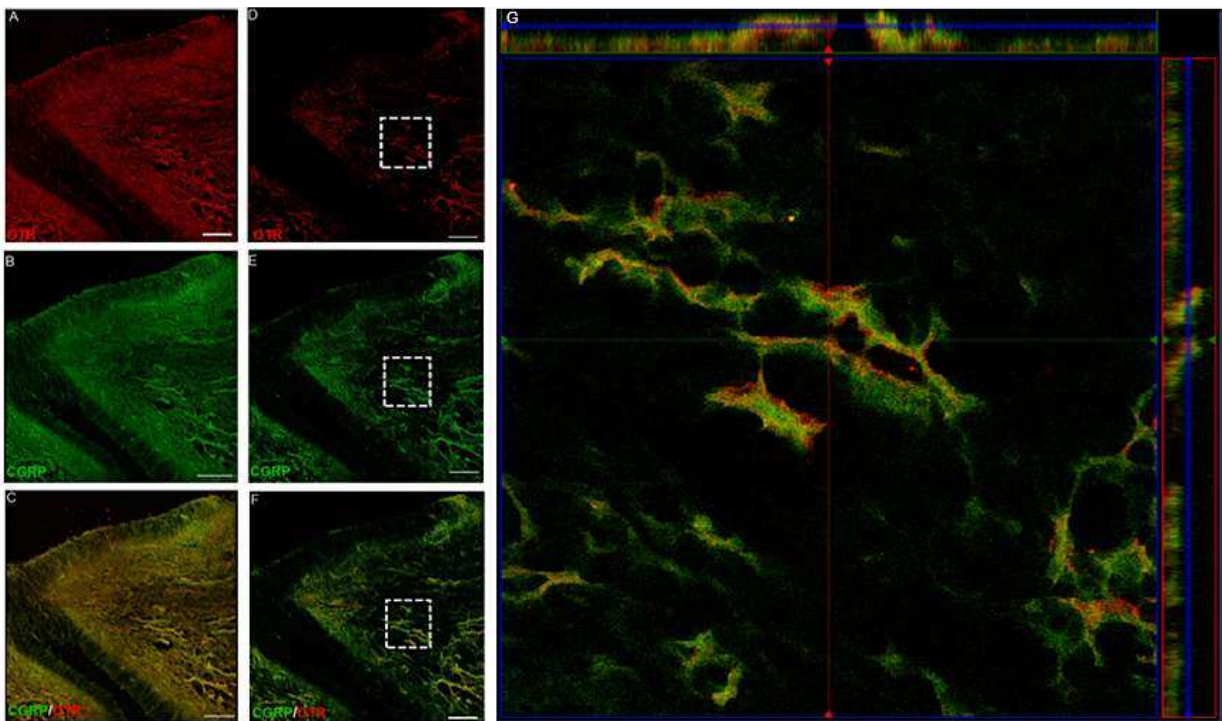
*Fotografías mediante inmunofluorescencia en zona apical de la pulpa dental, CGRP (verde) OTR (rojo). En A se muestra un esquema de un corte sagital de pulpa dental, señalado con un recuadro la zona apical. En B se muestran fotografías de una pulpa sana zona apical, en C se muestra un esquema de una corte sagital de pulpa dental en un diente con caries, en D fotografías tomadas mediante inmunofluorescencia de una pulpa dental zona apical en un diente con caries. Aumento 10x.*



### 8.3 Expresión del OTR y CGRP en la pulpa dental, microscopía confocal

El primer acercamiento fue estudiar la presencia del CGRP y OTR en el tercio coronal de la pulpa dental en la capa de dentina y predentina. Para esto, el tejido pulpar fue seccionado longitudinalmente y procesado mediante inmunofluorescencia para posteriormente ser observado al microscopio confocal. Se puede observar la presencia del CGRP y del OTR dentro del complejo dentino pulpar (Figura 15. A, B y C) además, se pudo observar la colocalización del CGRP y del OTR a diferentes planos del mismo corte (Figura 15. D, E y F) de las cuales fue tomada una región de interés, donde se observa mejor la colocalización del CGRP y OTR, demostrando que ambos componentes se pueden expresar en la misma célula o fibra, reforzando la evidencia de la colocalización del CGRP y el OTR en la dentina y predentina.

Figura 15. microscopía confocal de una sección de pulpa coronal, inmunofluorescencia receptor oxitocina (OTR), péptido relacionado al gen calcitonina (CGRP)



*Colocalización de OTR y CGRP en pulpa coronal, inmunofluorescencia receptor oxitocina (OTR), péptido relacionado al gen calcitonina (CGRP). Panel A,B,C son proyecciones del z-stack de 16 cortes ópticos. Panel D,E,F muestra un plano focal del z-stack; OTR y CGRP aparecen en el mismo plano. Panel G muestra una vista ortogonal en Z de 16 secciones*



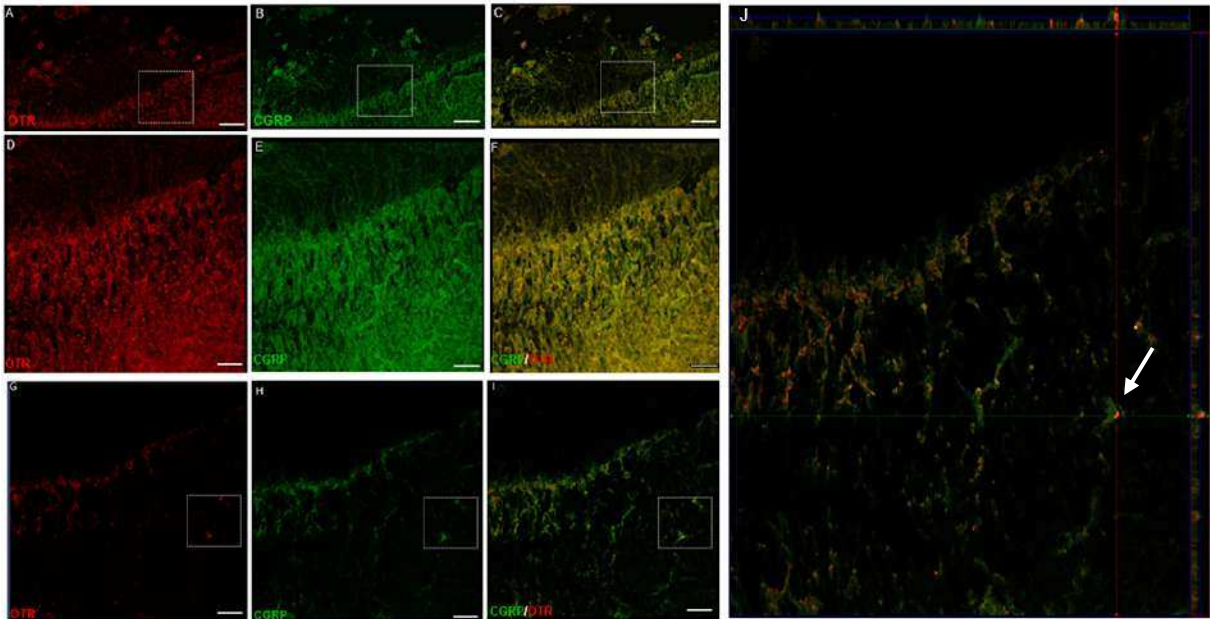
*ópticas (1  $\mu\text{m}$  espesor cada una) a un aumento de 40x; eje y-z y eje x-z muestra la colocalización entre OTR (rojo) y CGRP (verde). La colocalización entre OTR y CGRP se muestra en color naranja demostrando terminaciones libres de OTR y CGRP positivas. Barra de escala: 20  $\mu\text{m}$ .*

La distribución de neuropéptidos en la pulpa dental como el CGRP es más extensa en el plexo sub-odontoblástico asociados con largos troncos nerviosos, la inervación de la pulpa y dentina se han observado haces de fibras nerviosas distribuidas desde el ápice hacia la región coronal en donde la mayoría de las fibras nerviosas terminan en la capa del odontoblasto.

Se puede observar un acercamiento en la zona de transición entre la predentina y dentina (en su porción superior derecha), identificando la presencia del CGRP y del OTR dentro del complejo dentino pulpar (Figura 16. A, B y C). Además, se puede observar un acercamiento (40x) de esta región, para visualizar la colocalización del CGRP y del OTR a diferentes planos del mismo corte (Figura 16. D, E y F), de las cuales fue tomada una región de interés (Figura 16. G, H e I).

Donde se observa mejor la colocalización del CGRP y OTR, demostrando que ambos componentes también se pueden expresar en la misma célula o fibra, dentro de la zona de transición (Figura 16. J), Esto se observó en ambos pacientes, reforzando la evidencia de la colocalización del CGRP y el OTR en la zona de transición de la dentina y predentina.

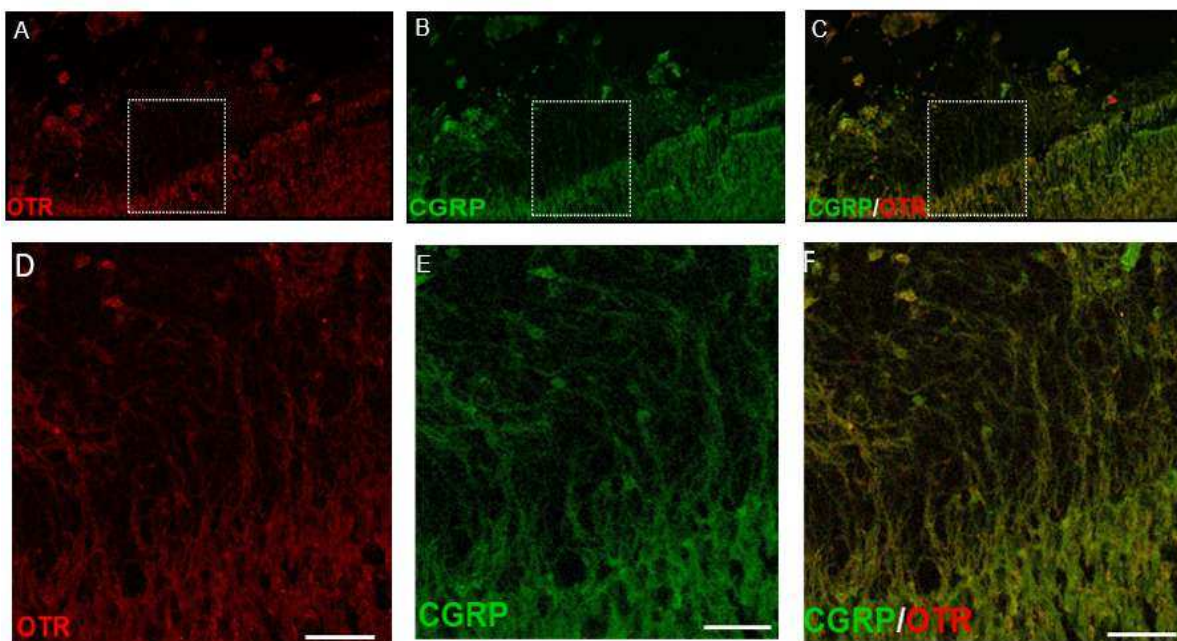
Figura 16. Imagen de microscopía confocal de una sección de pulpa sana zona coronal dentina y predentina



*Imagen de microscopía confocal de una sección de pulpa coronal zona de transición entre dentina y predentina, inmunofluorescencia receptor oxitocina (OTR), péptido relacionado al gen calcitonina (CGRP). Panel A,B,C son proyecciones del z-stack de 16 cortes ópticos, recuadro punteado blanco muestra la zona de interés en panel D,E,F objetivo 40x. Panel G,H,I muestra un plano focal del z-stack; OTR y CGRP aparecen en el mismo plano. (J) Vista ortogonal en Z de predentina y dentina, se observa la co-localización (flecha) entre OTR y CGRP. Barra de escala: 50  $\mu$ m.*

Se puede observar (Figura. 17), un acercamiento en la zona de transición entre la predentina y dentina (en su porción superior izquierda), identificando la presencia del CGRP y del OTR dentro del complejo dentino pulpar (Figura. 17, A, B y C), además, se puede observar un acercamiento (40x) de esta región, para visualizar la colocalización del CGRP y del OTR (Figura. 17, D, E y F). Esto se observó en ambos pacientes, reforzando la evidencia de la colocalización del CGRP y el OTR en la dentina y predentina.

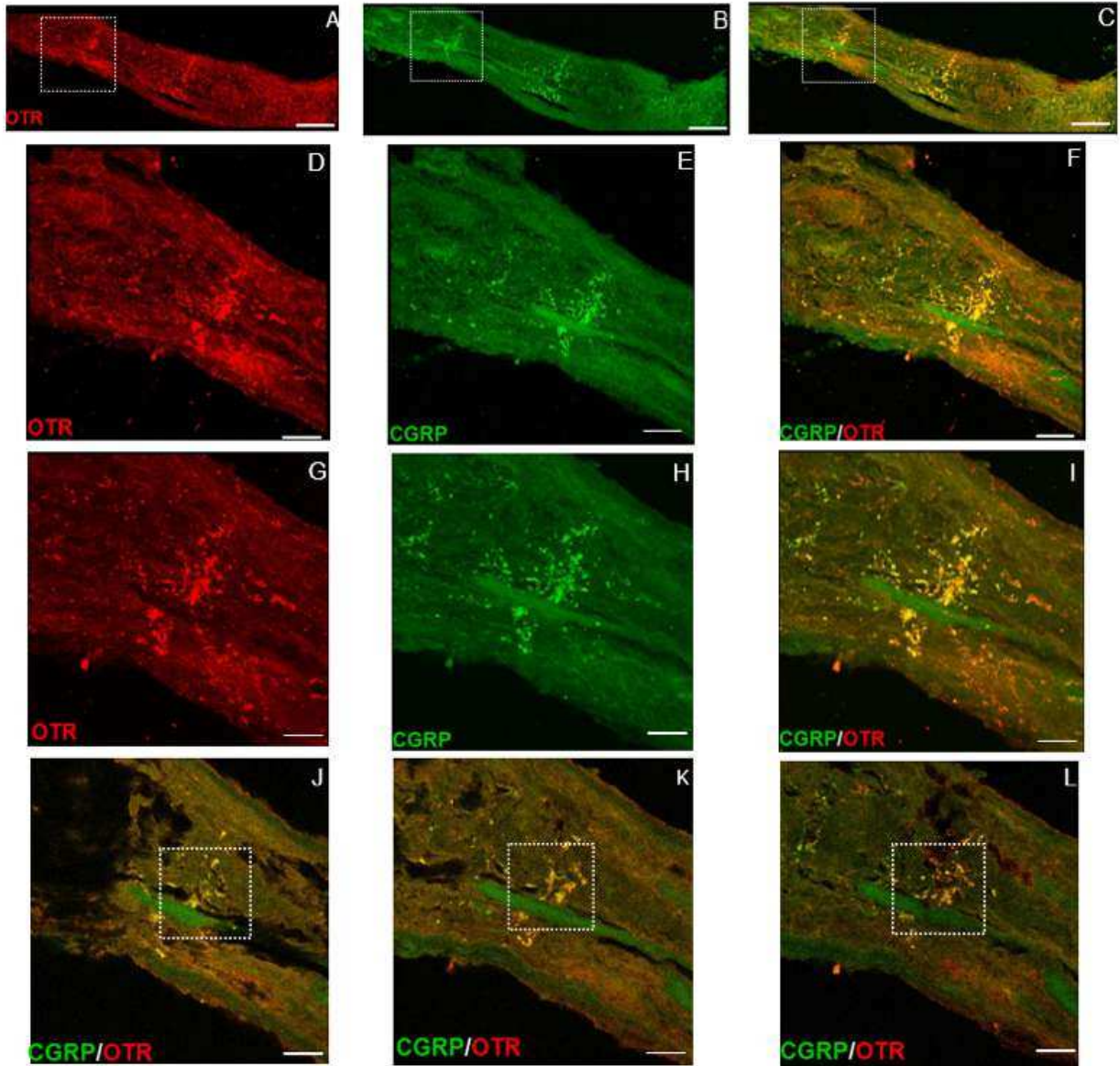
Figura 17. Imagen de microscopía confocal de una sección de pulpa sana en zona coronal dentina y predentina



*Imagen de microscopía confocal de una sección de pulpa coronal zona de transición entre dentina y predentina, inmunofluorescencia receptor oxitocina (rojo), péptido relacionado al gen calcitonina (verde). Panel A,B,C son proyecciones del z-stack de 16 cortes ópticos. Panel D,E,F un acercamiento de esta región, para visualizar la colocalización del CGRP y del OTR a diferentes planos del mismo corte.*

Se puede observar un acercamiento panorámico de la zona del tercio medio apical de la pulpa radicular, identificando la presencia del CGRP y del OTR (Figura. 18, A, B y C), además, se puede observar un acercamiento (25x) de una región de interés, para visualizar la colocalización del CGRP y del OTR cerca de la zona apical (Figura. 18, D, E y F). De esta zona se hizo un acercamiento para observar con mejor detalle la colocalización del CGRP y OTR (Figura. 18, G, H e I), además, se puede observar que este doble marcaje para CGRP y OTR, se mantiene a lo largo del todo el corte a diferentes profundidades o planos focales (Figura. 18, J, K y L). demostrando que ambos componentes también se pueden expresar en la misma célula o fibra dentro de la zona del tercio medio y apical de la pulpa radicular.

Figura 18. Imagen de microscopía confocal de una sección del tercio medio de la pulpa dental sana



*Imagen de microscopía confocal de la pulpa radicular; inmunofluorescencia del receptor oxitocina (rojo) y péptido relacionado al gen calcitonina (verde). Panel A,B,C son imágenes en un solo plano de toda la pulpa radicular (objetivo 25x) recuadro punteado blanco muestra la zona de interés. D,E,F. Son imágenes de proyección mostrando el marcaje de CGRP y OTR (25x). Panel G,H,I Son imágenes proyección dónde se observa la co-localización entre OTR y CGRP (40x). Panel J,K,L. Se muestran la co-localización entre OTR y CGRP en diferentes planos ópticos (40x).*

## **IX. Discusión**

El propósito del presente proyecto fue mostrar evidencia de la presencia del receptor oxitocina y su colocalización con el péptido relacionado al gen calcitonina, se realizó en pulpa dental de humano específicamente en terceros molares los cuales sirvieron de modelo para estudiar la colocalización de OTR y CGRP.

La pulpa dental es un tejido altamente innervado y contienen fibras nerviosas que expresan péptidos que, posterior a un daño dental se tiene una liberación de fibras nerviosas sensoriales y por tanto una liberación de neuropéptidos causando un incremento del flujo sanguíneo pulpar y vasodilatación. En diversos trabajos se ha descrito la presencia de CGRP en dientes deciduos y en dentición adulta (Calland, 1997), también se conoce por estudios en modelos animales que el número de fibras nerviosas inmunoreactivas a CGRP incrementan en molares lesionados de rata (Moore, 2022). En estudios realizados en ratas en cavidades preparadas con exposición pulpar, es decir provocando una necrosis pulpar, se observó dentina reparadora adyacente a la pulpa del día 7 al día 25 observándose numerosos fibroblastos y un entrelazado de fibras de CGRP adyacente a la pulpa formando dentina reparadora (Byers, 1990) demostrando que la interacción entre las fibras nerviosas, las células de la pulpa, las células inmunes, la vascularidad y el fluido pulpar es complejo y dinámico.

El tejido pulpar tiene neuronas sensoriales incluyendo fibras A $\delta$  y fibras C (Saito, 2022), estas tienen relación con la microcirculación del tejido pulpar en las cuales las terminaciones nerviosas contienen neuropéptidos como el CGRP y este induce a una inflamación neurogénica en la pulpa (Caviedes, 2008) debido a que el



neuropéptido se une a su receptor. El CGRP modula las respuestas inflamatorias, inmunes y vasculares debido a la expresión de su receptor en varias células diana en la pulpa dental (Castillo-Silva, 2019).

Los resultados de este proyecto en la distribución del CGRP coincide con otros autores en el cual éste presenta una gran distribución cerca del cuerno pulpar, disminuyen en la parte media y se encuentran en menor cantidad en la parte apical (Egan, 1996) la mayoría de las fibras nerviosas terminan en la capa del odontoblasto, en algunas áreas del plexo marginal nervioso es encontrado entre la predentina y la capa del odontoblasto.

Los resultados de este estudio demuestran diferencias significativas de marcaje de CGRP en pulpas sanas y en dientes con caries en la zona media y en la zona apical, también se demuestra diferencias significativas de marcaje de OTR en pulpa sana y caries en las tres zonas analizadas, zona coronal, zona media y zona apical.

Por otra parte, se ha demostrado que la oxitocina, un péptido que tiene una amplia distribución, produce potentes efectos analgésicos a través de la activación de su receptor (OTR) y este receptor puede bloquear la liberación del CGRP a niveles espinales (Condés-Lara y col 2003). Sin embargo, hasta ahora, no se conocía si el OTR se expresaba en las fibras o células que existen a nivel dental.

Los presentes resultados proveen oportunidad para la aplicación clínica de la oxitocina en procedimientos dentales.

## **X. Conclusiones y perspectivas**

El presente trabajo es el primero en presentar evidencias de la colocalización del CGRP y el OTR en la pulpa dental en humano. Se demostró la evidencia de la colocalización del CGRP y OTR en la zona coronal del complejo dentino pulpar, en la zona media y en la zona apical.

Los resultados del presente trabajo aportan evidencia que provee oportunidades para tener mejores tratamientos para el dolor dental, en especial en la aplicación clínica de la oxitocina en procedimientos quirúrgicos dentales en humano.

## XI. Bibliografía

- Allen NJ, Lyons DA. Glia as architects of central nervous system formation and function. *Science*. 2018 Oct 12;362(6411):181-185. <https://doi.org/10.1126/science.aat0473>.
- Alfven G. Oxitocina plasmática en niños con dolor abdominal recurrente. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004; 38 :513–517. <https://doi.org/10.1097/00005176-200405000-00010>
- Alfven G, de la Torre B, Uvnas-Moberg K. Concentraciones deprimidas de oxitocina y cortisol en niños con dolor abdominal recurrente de origen no orgánico. *Acta Pediatr*. 1994; 83 :1076–1080. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1994.tb12989.x>
- Álvarez-Vásquez, J. L., & Castañeda-Alvarado, C. P. (2022). Dental Pulp Fibroblast: A Star Cell. *Journal of endodontics*, 48(8), 1005–1019. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2022.05.004>
- Anastasi G, Capitani S, Carnazza M, Cinti S, Cremona O, De Caro R, et al. *Trattato di anatomia humana*. 2010. <http://hdl.handle.net/11392/1691900>
- Badel, T., Zadavec, D., Bašić Kes, V., Smoljan, M., Kocijan Lovko, S., Zavoreo, I., Krapac, L., & Anić Milošević, S. (2019). Orofacial pain - diagnostic and therapeutic challenges. *Acta clinica Croatica*, 58(Suppl 1), 82–89. <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.s1.12>
- Baliu-Piqué, M., Jusek, G., & Holzmann, B. (2014). Neuroimmunological communication via CGRP promotes the development of a regulatory phenotype in TLR4-stimulated macrophages. *European journal of immunology*, 44(12), 3708–3716. <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.s1.12>
- Bartsch, T., & Goadsby, P. J. (2003). The trigeminocervical complex and migraine: current concepts and synthesis. *Current pain and headache reports*, 7(5), 371–376. <https://doi.org/10.1007/s11916-003-0036-y>



- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139(2), 267–284.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.028>
- Bassetti, R., Kutenberger, J., & Bassetti, M. (2018). Regenerative endodontische Therapie nach Frontzahntrauma. Ein Fallbericht. *Regenerative endodontics after front tooth trauma. A case report. Swiss dental journal*, 128(5), 393–399.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29734801/>
- Besson, J.M., Chaouch A. (1987). Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiological reviews*, 67(1), 67–186.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.1987.67.1.67>
- Burchiel K. J. (2003). A new classification for facial pain. *Neurosurgery*, 53(5), 1164–1167. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000088806.11659.d8>
- Brain S. D. (1997). Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology*, 37(2-3), 133–152.  
[https://doi.org/10.1016/s0162-3109\(97\)00055-6](https://doi.org/10.1016/s0162-3109(97)00055-6)
- Brännström, M. (1963). Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts. *Journal of the American Dental Association*, 66(3), 366-370.  
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.1963.0104>
- Byers MR, Närhi MVO: Nerve supply of the pulp dentin complex and response to injury. In Hargreaves K, Goodis H, editors: *Seltzer and Bender's dental pulp*, Chicago, 2002, Quintessence Publishing.
- Byers, M. R., Taylor, P. E., Khayat, B. G., & Kimberly, C. L. (1990). Effects of injury and inflammation on pulpal and periapical nerves. *Journal of endodontics*, 16(2), 78–84. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)81568-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)81568-2)
- Byers M. R. (1984). Dental sensory receptors. *International review of neurobiology*, 25, 39–94. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(08\)60677-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(08)60677-7)

- Byers M. R. (1994). Dynamic plasticity of dental sensory nerve structure and cytochemistry. *Archives of oral biology*, 39 Suppl, 13S–21S. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(94\)90183-x](https://doi.org/10.1016/0003-9969(94)90183-x)
- Calland, J. W., Harris, S. E., & Carnes, D. L., Jr (1997). Human pulp cells respond to calcitonin gene-related peptide in vitro. *Journal of endodontics*, 23(8), 485–489. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(97\)80306-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(97)80306-8)
- Castillo-Silva, B. E., Martínez-Jiménez, V., Martínez-Castañón, G. A., Medina-Solís, C. E., Aguirre-López, E. C., Castillo-Hernández, J. R., Niño-Martínez, N., & Patiño-Marín, N. (2019). Expression of calcitonin gene-related peptide and pulp sensitivity tests in irreversible pulpitis. *Brazilian oral research*, 33, e077. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0077>
- Caviedes-Bucheli, J., Moreno, G. C., López, M. P., Bermeo-Noguera, A. M., Pacheco-Rodríguez, G., Cuellar, A., & Muñoz, H. R. (2008). Calcitonin gene-related peptide receptor expression in alternatively activated monocytes/macrophages during irreversible pulpitis. *Journal of endodontics*, 34(8), 945–949. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.05.011>
- Chung, G., & Oh, S. (2013). TRP channels in dental pain. *The Open Pain Journal*, 31–36. <https://doi.org/10.2174/1876386301306010031>.
- Condés-Lara, M., Marina González, N., Martínez-Lorenzana, G., Luis Delgado, O., & José Freund-Mercier, M. (2003). Actions of oxytocin and interactions with glutamate on spontaneous and evoked dorsal spinal cord neuronal activities. *Brain Research*, 976(1), 75–81. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)02690-8](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)02690-8)
- Condés-Lara, M., Rojas-Piloni, G., Martínez-Lorenzana, G., Diez-Martínez, D. C., & Rodríguez-Jiménez, J. (2012). Functional interactions between the paraventricular hypothalamic nucleus and raphe magnus. A comparative study of an integrated homeostatic analgesic mechanism. *Neuroscience*, 209, 196–207. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.02.032>
- Condés-Lara, M., Zayas-González, H., Manzano-García, A., Córdova-Quiroz, E., Granados-Mortera, J., García-Cuevas, M., Morales-Gómez, J., & González-Hernández, A. (2016). Successful Pain Management with Epidural Oxytocin. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22(6), 532–534. <https://doi.org/10.1111/cns.12551>

- Condés-Lara, M., Zayas-González, H., Manzano-García, A., & González-Hernández, A. (2016). Response to Letter to the Editor by Eisenach and Yaksh on “Successful Pain Management with Epidural Oxytocin”. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22(10), 867–868. <https://doi.org/10.1111/cns.12601>
- Craig, A. D. (2002). How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(8), 655–666. <https://doi.org/10.1038/nrn894>
- Cutrer F. M. (2010). Pathophysiology of migraine. *Seminars in neurology*, 30(2), 120–130. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1249222>
- Donnet A, Simon E, Cuny E, Demarquay G, Ducros A, De Gaalon S, et al. French guidelines for diagnosis and treatment of classical trigeminal neuralgia (French headache society and French neurosurgical society) *Rev Neurol (Paris)* 2017;173(3):131–151. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2016.12.033>
- Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 3760–3772. <https://doi.org/10.1172/JCI42843>
- Dubner, R., Hayes, R. L., & Hoffman, D. S. (1980). Neural and behavioral correlates of pain in the trigeminal system. *Research publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease*, 58, 63–72.
- Edvinsson JCA, Viganò A, Alekseeva A, Alieva E, Arruda R, De Luca C, D'Ettore N, Frattale I, Kurnukhina M, Macerola N, Malenkova E, Maiorova M, Novikova A, Řehulka P, Rapaccini V, Roshchina O, Vanderschueren G, Zvaune L, Andreou AP, Haanes KA; European Headache Federation School of Advanced Studies (EHF-SAS). The fifth cranial nerve in headaches. *J Headache Pain*. 2020 Jun 5;21(1):65. <https://doi.org/10.1186/s10194-020-01134-1>
- Egan, C. A., Bishop, M. A., & Hector, M. P. (1996). An immunohistochemical study of the pulpal nerve supply in primary human teeth: evidence for the innervation of deciduous dentine. *Journal of anatomy*, 188 (Pt 3), 623–631.
- Fehrenbacher, J. C., Sun, X. X., Locke, E. E., Henry, M. A., & Hargreaves, K. M. (2009). Capsaicin-evoked iCGRP release from human dental pulp: a model system for the study of peripheral neuropeptide secretion in normal healthy tissue. *Pain*, 144(3), 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.03.027>

- Gremillion H. A. (2002). Multidisciplinary diagnosis and management of orofacial pain. *General dentistry*, 50(2), 178–188.
- Grewen KM, Light KC, Mechlin B, Girdler SS. El origen étnico se asocia con alteraciones en las relaciones de la oxitocina con la sensibilidad al dolor en las mujeres. *Etnia Salud*. 2008; 13 :219–241.
- Gimpi, G., & Fahrenholz, F. (2001). The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiological reviews*, 81(2), 629–683. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.629>
- Goadsby PJ, Holland PR, Martins-Oliveira M, Hoffmann J, Schankin C, Akerman S. Pathophysiology of migraine: a disorder of sensory processing. *Physiol Rev*. 2017;97(2):553–622.
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2011). Dentin: structure, composition, and mineralization. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 3(2), 711–735. <https://doi.org/10.2741/e281>
- González-Hernández, A., Manzano-García, A., Martínez-Lorenzana, G., Tello-García, I. A., Carranza, M., Arámburo, C., & Condés-Lara, M. (2017). Peripheral oxytocin receptors inhibit the nociceptive input signal to spinal dorsal horn wide-dynamic-range neurons. *Pain*, 158(11), 2117–2128. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001024>
- Hagberg C. Assessment of bite force: a review. *J Craniomandibular Disord*. 1987 Fall;1(3):162-9. PMID: 3325528.
- Hahn, C. L., & Liewehr, F. R. (2007). Update on the adaptive immune responses of the dental pulp. *Journal of endodontics*, 33(7), 773–781. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.01.002>
- Hashemi-Beni, B., Khoroushi, M., Foroughi, M. R., Karbasi, S., & Khademi, A. A. (2017). Tissue engineering: Dentin - pulp complex regeneration approaches (A review). *Tissue & cell*, 49(5), 552–564. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2017.07.002>
- Hurwitz, E. E., Simon, M., Vinta, S. R., Zehm, C. F., Shabot, S. M., Minhajuddin, A., & Abouleish, A. E. (2017). Adding Examples to the ASA-Physical Status Classification Improves Correct Assignment to Patients. *Anesthesiology*, 126(4), 614–622. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000001541>

- Huff, T., Weisbrod, L. J., & Daly, D. T. (2022). Neuroanatomy, Cranial Nerve 5 (Trigeminal). In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Kangarlou Haghghi, A., Nafarzadeh, S., Shantiaee, Y., Naseri, M., & Ahangari, Z. (2010). Relation between pulpal neuropeptides and dental caries. *Iranian endodontic journal*, 5(3), 113–116.
- Takehashi, S., Stanley, H., & Fitzgerald, R. (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 20(3), 340–349. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(65)90166-0)
- Kishida, R., Dubbeldam, J. L., & Goris, R. C. (1985). Primary sensory ganglion cells projecting to the principal trigeminal nucleus in the mallard, *Anas platyrhynchos*. *The Journal of comparative neurology*, 240(2), 171–179. <https://doi.org/10.1002/cne.902400207>
- Lacruz, R. S., Habelitz, S., Wright, J. T., & Paine, M. L. (2017). Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiological reviews*, 97(3), 939–993. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>
- Lamotte R, Campbell JN: Comparison of responses of warm and nociceptive C-fiber afferents in monkey with human judgements of thermal pain, *J Neurophysiology* 41:509, 1978.
- Larrier D, Lee A. Anatomy of headache and facial pain. *Otolaryngol Clin N Am*. 2003;36(6):1041–1053.
- LeGeros. Chemical and crystallographic events in the caries process. *J Dent Res* 1990; 69: 567-74.
- Lisi, S., Peterková, R., Peterka, M., Vonesch, J. L., Ruch, J. V., & Lesot, H. (2003). Tooth morphogenesis and pattern of odontoblast differentiation. *Connective tissue research*, 44 Suppl 1, 167–170.
- Louvel, D., Delvaux, M., Felez, A., Fioramonti, J., Bueno, L., Lazorthes, Y., & Frexinos, J. (1996). Oxytocin increases thresholds of colonic visceral perception in patients with irritable bowel syndrome. *Gut*, 39(5), 741–747. <https://doi.org/10.1136/gut.39.5.741>

- Lundeberg, T., Uvnäs-Moberg, K., Agren, G., & Bruzelius, G. (1994). Anti-nociceptive effects of oxytocin in rats and mice. *Neuroscience letters*, 170(1), 153–157. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90262-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90262-3)
- Martínez-Lorenzana, G., Gamal-Eltrabily, M., Tello-García, I. A., Martínez-Torres, A., Becerra-González, M., González-Hernández, A., & Condés-Lara, M. (2021). CLARITY with neuronal tracing and immunofluorescence to study the somatosensory system in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 350, 109048. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.109048>
- Michot, B., Casey, S., & Gibbs, J. (2021). Effects of CGRP-Primed Dental Pulp Stem Cells on Trigeminal Sensory Neurons. *Journal of Dental Research*, 100(11), 1273–1280. <https://doi.org/10.1177/00220345211004872>
- Middleton, S. J., Perez-Sanchez, J., & Dawes, J. M. (2022). The structure of sensory afferent compartments in health and disease. *Journal of anatomy*, 241(5), 1186–1210. <https://doi.org/10.1111/joa.13544>
- Millan M. J. (2002). Descending control of pain. *Progress in neurobiology*, 66(6), 355–474. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00009-](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00009-)
- Miranda-Cárdenas, Y., Rojas-Piloni, G., Martínez-Lorenzana, G., Rodríguez-Jiménez, J., López-Hidalgo, M., Freund-Mercier, M. J., & Condés-Lara, M. (2006). Oxytocin and electrical stimulation of the paraventricular hypothalamic nucleus produce antinociceptive effects that are reversed by an oxytocin antagonist. *Pain*, 122(1), 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.01.029>
- Moore, E. R., Michot, B., Erdogan, O., Ba, A., Gibbs, J. L., & Yang, Y. (2022). CGRP and Shh Mediate the Dental Pulp Cell Response to Neuron Stimulation. *Journal of dental research*, 101(9), 1119–1126. <https://doi.org/10.1177/00220345221086858>
- Naranjo Sierra MC. Terminología, clasificación y medición de los defectos en el desarrollo del esmalte. Revisión de literatura. *Univ Odontol*. 2013 Ene-Jun; 32(68): 33-44.
- Närhi, M., Jyväsjärvi, E., Virtanen, A., Huopaniemi, T., Ngassapa, D., & Hirvonen, T. (1992). Role of intradental A- and C-type nerve fibres in dental pain mechanisms. *Proceedings of the Finnish Dental Society. Suomen Hammaslaakariseuran toimituksia*, 88 Suppl 1, 507–516.

- Ngassapa D. N. (1996). Update on the concepts and probable role of peptidergic nerves in dentine sensitivity and pain mechanisms. *East African medical journal*, 73(4), 268–270.
- Orchardson, R., & Cadden, S. W. (2001). An update on the physiology of the dentine-pulp complex. *Dental update*, 28(4), 200–209. <https://doi.org/10.12968/denu.2001.28.4.200>
- Okeson Jeffrey P., *Dolor Orofacial según Bell*, 1ra. Edición en castellano. Ed. Quintessence 1999.
- Price, S., & Daly, D. T. (2022). Neuroanatomy, Trigeminal Nucleus. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Raddant, A. C., & Russo, A. F. (2011). Calcitonin gene-related peptide in migraine: intersection of peripheral inflammation and central modulation. *Expert reviews in molecular medicine*, 13, e36. <https://doi.org/10.1017/S1462399411002067>
- Reiter MK, Kremarik P, Freund-Mercier MJ, Stoeckel ME, Desaulles E, Feltz P (1994) Localization of oxytocin bindings in the thoracic and upper lumbar spinal cord of the adult and postnatal rat: a histo auto radiographic study. *Eur J Neurosci* 6:98 –104.
- Rodd, H. D., Loescher, A. R., & Boissonade, F. M. (1998). Immunocytochemical and electron-microscopic features of tooth pulp innervation in hereditary sensory and autonomic neuropathy. *Archives of oral biology*, 43(6), 445–454. [https://doi.org/10.1016/s0003-9969\(98\)00025-9](https://doi.org/10.1016/s0003-9969(98)00025-9)
- Rodd HD, Boissonade FM. Immunocytochemical investigation of neurovascular relationships in human tooth pulp. *J Anat.* 2003 Feb;202(2):195-203. doi: [10.1046/j.1469-7580.2003.00153.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2003.00153.x).
- Rombouts, C., Giraud, T., Jeanneau, C., & About, I. (2017). Pulp Vascularization during Tooth Development, Regeneration, and Therapy. *Journal of dental research*, 96(2), 137–144. <https://doi.org/10.1177/0022034516671688>
- Rojas-Piloni, G., Rodríguez-Jiménez, J., Martínez-Lorenzana, G., & Condés-Lara, M. (2012). Dorsal horn antinociception mediated by the paraventricular hypothalamic nucleus and locus coeruleus: A comparative study. *Brain Research*, 1461, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.04.042>



- Russo, A. F., & Hay, D. L. (2023). CGRP physiology, pharmacology, and therapeutic targets: migraine and beyond. *Physiological reviews*, 103(2), 1565–1644. <https://doi.org/10.1152/physrev.00059.2021>
- Salud bucodental. (s. f.). Organización Mundial de la Salud, salud bucodental. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
- Sattari, M., Mozayeni, M. A., Matloob, A., Mozayeni, M., & Javaheri, H. H. (2010). Substance P and CGRP expression in dental pulps with irreversible pulpitis. *Australian endodontic journal: the journal of the Australian Society of Endodontology Inc*, 36(2), 59–63. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2009.00186.x>
- Saito, N., Kimura, M., Ouchi, T., Ichinohe, T., & Shibukawa, Y. (2022).  $G\alpha_s$ -Coupled CGRP Receptor Signaling Axis from the Trigeminal Ganglion Neuron to Odontoblast Negatively Regulates Dentin Mineralization. *Biomolecules*, 12(12), 1747. <https://doi.org/10.3390/biom12121747>
- Sasaki, T. and Garant, P.R. (1996), Structure and organization of odontoblasts. *Anat. Rec.*, 245: 235-249. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199606\)245:2<235::AID-AR10>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199606)245:2<235::AID-AR10>3.0.CO;2-Q)
- Seneviratne, C. J., Balan, P., Ko, K. K. K., Udawatte, N. S., Lai, D., Ng, D. H. L., Venkatachalam, I., Lim, K. S., Ling, M. L., Oon, L., Goh, B. T., & Sim, X. Y. J. (2021). Efficacy of commercial mouth-rinses on SARS-CoV-2 viral load in saliva: randomized control trial in Singapore. *Infection*, 49(2), 305–311. <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01563-9>
- Siles-Garcia, A. A., Alzamora-Cepeda, A. G., Atoche-Socola, K. J., Peña-Soto, C., & Arriola-Guillén, L. E. (2021). Biosafety for Dental Patients During Dentistry Care After COVID-19: A Review of the Literature. *Disaster medicine and public health preparedness*, 15(3), e43–e48. <https://doi.org/10.1017/dmp.2020.252>
- Silverman, J. D., & Kruger, L. (1987). An Interpretation of Dental Innervation Based upon the Pattern of Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP)-Immunoreactive Thin Sensory Axons. *Somatosensory Research*, 5(2), 157–175. <https://doi.org/10.3109/07367228709144624>
- Sorg, H., Grambow, E., Eckl, E., & Vollmar, B. (2017). Oxytocin effects on experimental skin wound healing. *Innovative surgical sciences*, 2(4), 219–232. <https://doi.org/10.1515/iss-2017-0033>



- Staquet, M. J., Durand, S. H., Colomb, E., Roméas, A., Vincent, C., Bleicher, F., Lebecque, S., & Farges, J. C. (2008). Different roles of odontoblasts and fibroblasts in immunity. *Journal of dental research*, 87(3), 256–261. <https://doi.org/10.1177/154405910808700304>
- Swanson, L. W., Sawchenko, P. E., Béroud, A., Hartman, B. K., Helle, K. B., & Vanorden, D. E. (1981). An immunohistochemical study of the organization of catecholaminergic cells and terminal fields in the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus. *The Journal of comparative neurology*, 196(2), 271–285. <https://doi.org/10.1002/cne.901960207>
- Taintor, J. F., Biesterfeld, R. C., & Langeland, K. (1981). Irritational or reparative dentin. A challenge of nomenclature. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology*, 51(4), 442–449. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(81\)90156-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(81)90156-0)
- Tencate, A.R. and Mills, C. (1972), The development of the periodontium: The origin of alveolar bone. *Anat. Rec.*, 173: 69-77. <https://doi.org/10.1002/ar.1091730106>
- Thesleff, I., & Tummers, M. (2009). Tooth organogenesis and regeneration. In *StemBook*. Harvard Stem Cell Institute.
- Wang, G., Hu, Z., Wang, S., Yan, Q., & Liu, X. (2023). Burden of oral disorders, 1990-2019: estimates from the Global Burden of Disease Study 2019. *Archives of medical science : AMS*, 19(4), 930–940. <https://doi.org/10.5114/aoms/165962>
- Uddman, R., Björilin, G., Möller, B., & Sundler, F. (1980). Occurrence of VIP nerves in mammalian dental pulps. *Acta odontologica Scandinavica*, 38(5), 325–328. <https://doi.org/10.3109/00016358009033600>
- Uddman, R., Grunditz, T., & Sundler, f. (1986). Calcitonin gene related peptide: a sensory transmitter in dental pulps? *European Journal of Oral Sciences*, 94(3), 219–224. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1986.tb01756.x>
- Uryvaev IuV, Petrov GA. Disminución de la sensibilidad al dolor en el hombre después del tratamiento con dosis muy bajas de oxitocina. *Biull Eksp Biol Med*. 1996; 122 :487–489.
- Yang J. (1994). Intrathecal administration of oxytocin induces analgesia in low back pain involving the endogenous opiate peptide system. *Spine*, 19(8), 867–871. <https://doi.org/10.1097/00007632-199404150-00001>

Williams, A. C. C., & Craig, K. D. (2016). Updating the definition of pain. *Pain*, 157(11), 2420–2423.  
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000613>


Wouter B. C, McCulloch C, The periodontal ligament: A unique, multifunctional connective tissue. *Periodontology* 2000, 1997; 13: 20-40.


Zayas-González, H., González-Hernández, A., Manzano-García, A., Hernández-Rivero, D., García-Cuevas, M. A., Granados-Mortera, J. C., Vaca-Aguirre, L., Flores-Fierro, S., Martínez-Lorezana, G., & Condés-Lara, M. (2019). Effect of local infiltration with oxytocin on hemodynamic response to surgical incision and postoperative pain in patients having open laparoscopic surgery under general anesthesia. *European Journal of Pain*, 23(8), 1519–1526.  
<https://doi.org/10.1002/ejp.1427>

Zuurmond, W. W., & de Lange, J. J. (1996). Neuro-anatomie en anesthesiologie [Neuroanatomy and anaesthesiology]. *Nederlands tijdschrift voor tandheelkunde*, 103(5), 167–169.

## XII. Anexos

### 12.1 Formatos de Registro y Aprobación de Protocolo de Investigación





DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Registro del Protocolo de Investigación del Estudiante de Posgrado

Trámite a realizar:	Nuevo Registro (X)	Cambio ( )
Fecha de registro*:	09 FEB 2024	
No. Registro de Proyecto*:	14490	
Fecha de inicio de proyecto:	10 Noviembre 2021	Fecha de término de proyecto: 14 de Diciembre 2023

Espacio (\*) exclusivo para la Dirección de Investigación y Posgrado

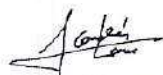

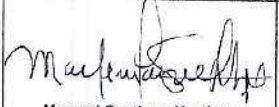


**1. Datos del solicitante:**  
No. De expediente: 302297


<b>Nombre:</b> Santiago	Martínez	Mayemí Pamela
<b>Apellido Paterno</b>	Apellido Materno	Nombre (s)
<b>Dirección:</b> Real del Marqués 761 Int 47	Real del Marqués	76118
<b>Calle y número</b>	Colonia	C.P.
Querétaro	5510121543	mpsm.pamela@gmail.com
<b>Estado</b>	Teléfono	correo electrónico

**2. Datos del proyecto:**

<b>Facultad:</b>	Facultad de Medicina
<b>Programa:</b>	Maestría en Investigación Médica Línea Terminal Salud Pública
<b>Tema específico del proyecto</b>	"Evidencia de la localización del receptor de oxitocina en pulpa dental en Humano"

**3. Nombres y firmas de:**

 Dr. Miguel Condés Lara Director o Directora de Tesis	Co-director o Co-directora	 Dr. Nicolás Camacho Calderón Jefe de Investigación y Posgrado de la Facultad
 Mayemí Santiago Martínez Alumno o Alumna	 Dra. Guadalupe Zaldivar Lelo de Larrea Directora de la Facultad	 Dr. Manuel Toledano Ayala Director de Investigación, Innovación y Posgrado



SOMOSUAG  
SOMOS UNIVERSIDAD



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
**FACULTAD DE MEDICINA**



Facultad de Medicina a 10 de noviembre del 2021

**Mayemi Pamela Santiago Martínez**

**Presente**

Por medio de la presente le hacemos llegar las observaciones y recomendaciones al protocolo:

**DESCRIPCIÓN DE RECEPTORES DE OXITOCINA EN FIBRAS NERVIOSAS QUE PUEDEN LLEGAR A INERVAR LOS TERCEROS MOLARES.**

Que ha turnado a este Comité de Bioética:

Cumple con requisitos.

Con base en lo anterior el dictamen Correspondiente es de:

**APROBADO**

**"EDUCO EN LA VERDAD Y EN EL HONOR"**

**"POR LA VIDA Y LA SALUD"**

**Dr. Carlos Francisco Sosa Ferreyra**  
Presidente del Comité de Bioética  
Facultad de Medicina



Cp. Consejo de Investigación y Posgrado

## 12.2 Carta de participación Universidad De LaSalle Bajío



Asunto: Proyecto de estudios de Maestría

Instituto de Neurobiología  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Campus UNAM-Juriquilla

P r e s e n t e


Por este medio me permito informar que **Mayemi Pamela Santiago Martínez** docente de la **Universidad De La Salle Bajío** participa en el proyecto de investigación que se desarrolla en la Facultad de Odontología, en el cual se realiza la recolección de muestras de tejido dental.

Lo anterior es como parte de sus estudios de **Maestría en Investigación Médica**, con el protocolo titulado: **"DESCRIPCIÓN DE RECEPTORES DE OXITOCINA EN FIBRAS NERVIOSAS QUE PUEDEN LLEGAR A INVERVAR LOS TERCEROS MOLARES"**.

Reciban un cordial y quedo a sus órdenes.

Atentamente



  
Dra. Laura María Díaz Guzmán  
Directora de la Facultad de Odontología  
Universidad De La Salle Bajío.

UNIVERSIDAD DE LA SALLE BAJÍO  
Campus Campestre

Con reconocimiento de validez oficial de estudios otorgado por Decreto Presidencial, publicado en el Diario Oficial de fecha 18 de febrero de 1986, registrado ante la SEP con el número 1122 Tome 1.  
Av. Universidad 602, Colonia Lomas del Campestre, Apdo. Postal 3-444, C.P. 3750, Tel.: (477) 7 10 85 00, Fax: (477) 7 18 55 11, León, Guanajuato, México.  
www.delsalle.edu.mx info@delasalle.edu.mx

## 12.3 Consentimiento informado

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN ODONTOLÓGICA

Título del protocolo: Evidencia de la localización del receptor de oxitocina en pulpa dental en humano.

Investigador principal: C.D. Esp. P e I. Mayemi Pamela Santiago Martínez.

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación odontológica. Antes de decidir sobre su participación, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

#### JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La extracción de los terceros molares es un procedimiento común relacionado al daño de tejido tisular asociado con varios grados de dolor postoperatorio, la remoción de estos dientes puede afectar la calidad de vida postoperatoria del paciente particularmente los primeros 3 días debido a la intensidad del dolor e inflamación que lleva en procedimiento. Aproximadamente entre el 40 al 60% de los pacientes refieren una experiencia de dolor de moderado a severo. Además del dolor, el sangrado, edema y la limitación en la apertura bucal (trismus) son una de las principales complicaciones asociado con la remoción de terceros molares mandibulares. El análisis del receptor a oxitocina en terceros molares extraídos nos permitirá identificar tipos de receptores asociados al dolor y dará oportunidad para su posterior aplicación local debido a que la oxitocina ha surgido como un fármaco potencial para tratar el dolor en humanos y también ha sido implicado como un mediador importante en la analgesia endógena.

#### BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Este estudio tendrá como beneficio determinar la presencia de receptores de oxitocina en las fibras nerviosas de terceros molares extraídos. El estudio se

realizará preferencialmente en pacientes que por indicaciones quirúrgicas se programan para extracción. En general estas piezas son sanas pero en algunas ocasiones tienen algún proceso patológico. Se valorarán las posibles variaciones de en caso de encontrar los receptores a oxitocina tanto en piezas sanas como en las que cursan un estado patológico.

En el corto plazo, otros pacientes podrán beneficiarse de este estudio, mediante la aplicación de terapias que incrementen el éxito de manejo del dolor posterior a la extracción de terceros molares y en otros procedimientos quirúrgicos dentales.

#### OBJETIVO DEL ESTUDIO

Determinar la presencia del péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP) y el receptor de oxitocina (OTR), en pulpa dental de terceros molares sanos y en molares con caries.

#### PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar usted en participar en el estudio, se le realizarán algunas preguntas acerca de sus hábitos y sus antecedentes médicos. Se realizará una examinación clínica de su cavidad oral y se tomará radiografía panorámica, una vez programado el procedimiento quirúrgico indicado, se colocarán las muestra en frascos para su posterior análisis en el laboratorio.

#### RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Las técnicas utilizadas en el presente estudio no presentan riesgos ni complicaciones.

#### ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la carta de consentimiento informado anexa a este documento.

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del Participante	Fecha

Testigo	Fecha

Testigo	Fecha

Esta parte debe ser completada por el investigador (o su representante):

He explicado al Sr(a) \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador	Fecha



CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo: Evidencia de la localización del receptor de oxitocina en pulpa dental en humano

Investigador principal: C.D. Esp. P e I. Mayemi Pamela Santiago Martínez

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones (opcional):

\_\_\_\_\_

Firma del Participante

Fecha

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Testigo

Fecha

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Testigo

Fecha

## 12.4 Cuestionario COVID-19

Debido a la presencia del coronavirus SARS-CoV2 en la saliva, para evitar un posible riesgo de infección debido al manejo de las muestras, se proponen las siguientes medidas para evitar el contagio.

1) Con el propósito de descartar a algún paciente enfermo de COVID-19. Se solicitará a los candidatos a participar en el estudio el siguiente cuestionario, basado en la publicación de Siles-García, A., y col. Cuestionario:

1. ¿Usted presenta fiebre, falta de aire, dolor de cabeza en los últimos 14 días?
2. ¿Usted ha presentado problemas respiratorios en los últimos 14 días?
3. ¿Usted ha estado en contacto con alguna persona enferma de COVID-19 en los últimos 14 días?
4. ¿Usted ha estado en contacto con alguna persona con fiebre o con algún problema respiratorio en los últimos 14 días?
5. ¿Ha estado en contacto con gente desconocida o en algún evento público o reunión?

Si es que el participante responde NO a todas las preguntas, se procederá a considerarlo como candidato del Proyecto de Investigación.

2) Uso de barreras de protección: Empleo de cubrebocas N95, guantes, bata desechable, gorro desechable, careta de protección. En cada paciente se usará equipo nuevo.

3) En la sala de espera. Medición de la temperatura y aplicación de gel a base de alcohol 70% en todos los pacientes.

4) Con el propósito de reducir la carga viral de SARS-CoV2 en la saliva. A todos los participantes de estudio, antes de realizarles algún tratamiento, se le va a enjuagar la boca con peróxido de hidrógeno al 1% durante 1 min. En caso de presentar alguna irritación en la mucosa, se va a sustituir el enjuague a base de peróxido de hidrógeno por un enjuague de iodopovidona al 0.58% durante 1 min. Ambos enjuagues bucales son efectivos para destruir al coronavirus SARS-CoV2 cuando se emplean por 1 min (Siles García y col, 2020). Para validar lo anterior, en ensayos clínicos se ha demostrado que el enjuague bucal de iodopovidona reduce la carga viral en los pacientes enfermos de COVID-19 durante las 6 horas posteriores al uso del enjuague (Seneviratne y col, 2021).