

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA**

**PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**VALORACIÓN TISULAR DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN  
TEJIDO CONECTIVO POSTERIOR AL USO DE CRIOTERAPIA:  
PROPUESTA DE MODELO IN SITU**

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN  
ENDODONCIA**

**PRESENTA**

**C.D. MARÍA FERNANDA TRONCOSO CIBRIAN**

**PRESIDENTE**

**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

**M.C. EDGAR RAMIRO MÉNDEZ SÁNCHEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

**DR. MIGUEL ÁNGEL CADENA ALCÁNTAR**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**M.C. PARIS ASTRID MIER MALDONADO**

**TIJUANA, BAJA CALIFORNIA**

**JUNIO DEL 2019**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC Junio 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **VALORACIÓN TISULAR DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN TEJIDO CONECTIVO POSTERIOR AL USO DE CRIOTERAPIA: PROPUESTA DE MODELO IN SITU**

Propuesto por el **CD María Fernanda Troncoso Cibrian**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E**

Dra. Ana Gabriela Carillo Vázquez

**PRESIDENTE  
(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC Junio 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **VALORACIÓN TISULAR DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN TEJIDO CONECTIVO POSTERIOR AL USO DE CRIOTERAPIA: PROPUESTA DE MODELO IN SITU**

Propuesto por el **CD María Fernanda Troncoso Cibrian**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E**

M.C. Edgar Ramiro Méndez Sánchez

**SINODAL  
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC Junio 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **VALORACIÓN TISULAR DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN TEJIDO CONECTIVO POSTERIOR AL USO DE CRIOTERAPIA: PROPUESTA DE MODELO IN SITU**

Propuesto por el **CD María Fernanda Troncoso Cibrian**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E**

Dr. Miguel Ángel Cadena Alcántar

**SINODAL  
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC Junio 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **VALORACIÓN TISULAR DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN TEJIDO CONECTIVO POSTERIOR AL USO DE CRIOTERAPIA: PROPUESTA DE MODELO IN SITU**

Propuesto por el **CD María Fernanda Troncoso Cibrian**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E**

M.C. Paris Astrid Mier Maldonado

**SINODAL  
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**VALORACIÓN TISULAR DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN TEJIDO  
CONECTIVO POSTERIOR AL USO DE CRIOTERAPIA:  
PROPUESTA DE MODELO IN SITU**

**PRESENTA**

---

C.D. María Fernanda Troncoso Cibrian

**PRESIDENTE  
(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

---

Dra. Ana Gabriela Carillo Vázquez

**SINODALES  
(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)**

---

M.C. Edgar Ramiro Méndez  
Sánchez

---

Dr. Miguel Ángel Cadena  
Alcántar

---

M.C. Paris Astrid Mier  
Maldonado

Tijuana, Baja California, junio del 2019

### AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar mi posgrado y este trabajo final a mi **familia**, a mis **padres**, mis **hermanos** y mi **pareja**. Sin ustedes esto no hubiera sido posible. Gracias, muchas gracias por siempre creer en mí, por motivarme a siempre ser mejor y buscar más, por estar conmigo en los mejores y peores momentos del camino, y por enseñarme que el miedo no es razón suficiente para rendirse.

Gracias a la **Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez**, por creer en mi dándome la oportunidad de entrar a este posgrado, y permitirme seguir creciendo como profesionalista y como persona.

Agradezco a mi directora y codirectores en este proyecto, a la **Dra. Ana Gabriela Carrillo**, al **Dr. Edgar Méndez**, al **Dr. Miguel Ángel Cadena** y a la **Dra. Paris Mier**. Por guiarme y asesorarme en este camino para lograr los resultados que tenemos hoy, pudiendo cerrar este ciclo con broche de oro.

Un agradecimiento muy especial a:

**Dr. Jorge Vera**, que desde la distancia puso su energía e interés en este proyecto, sin sus aportaciones y asesorías este trabajo no hubiera sido el mismo.

**Dr. Jorge Tovar**, gracias por compartir sus conocimientos e ideas conmigo, por el interés puesto en este trabajo y por ayudarme a superar mi miedo a los roedores.

**Dr. Edgar Méndez**, haciendo un trabajo histológico maravilloso y quien siempre me brindo su ayuda incondicional para este proyecto.

Quiero agradecer a mis **docentes**, quienes compartieron conmigo de forma desinteresada sus conocimientos, su amor a la profesión y su ética. Así mismo agradezco a todo el personal administrativo que formo parte de este camino y a quienes siempre recordare con mucho cariño, **Vicky**, **Adri** y **Chio**.

## ***AGRADECIMIENTOS***

Gracias a mis **compañeros**, por todos los momentos que pasamos juntos en el camino y por tantas enseñanzas compartidas que nos ayudaron a crecer profesional y personalmente en conjunto y de forma individual.

Finalmente, quiero agradecer al **CONACYT** por la beca otorgada.

**CONTENIDO**

AGRADECIMIENTOS .....	i
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
RESUMEN .....	iv
INTRODUCCIÓN .....	1
ENDODONCIA .....	1
PULPA DENTAL.....	1
COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LA PULPA .....	2
POBLACIONES CELULARES DE LA PULPA.....	3
• ODONTOBLASTOS .....	3
• FIBROBLASTOS .....	3
• CÉLULAS ECTOMESEENQUIMÁTICAS O CÉLULAS MADRE DE PULPA DENTAL .....	4
• MACRÓFAGOS.....	5
• CÉLULAS DENDRÍTICAS.....	5
• OTRAS CÉLULAS DEL TEJIDO PULPAR .....	6
FIBRAS.....	6
• FIBRAS COLÁGENAS.....	6
• FIBRAS RETICULARES.....	6
• FIBRAS ELÁSTICAS .....	6
• FIBRAS DE OXITALÁN.....	6
SUSTANCIA FUNDAMENTAL .....	7
ACTIVIDADES FUNCIONALES DE LA PULPA .....	7
• INDUCTORA.....	7
• FORMATIVA.....	7
• NUTRITIVA.....	7
• SENSITIVA.....	8
• DEFENSIVA O REPARADORA.....	8
AFECCIÓN DE LA PULPA DENTAL .....	8
TEJIDOS PERIAPICALES.....	9

## **CONTENIDO**

LIGAMENTO PERIODONTAL .....	9
FUNCIONES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL .....	10
• FORMATIVA.....	10
• REMODELACIÓN.....	10
• FÍSICA .....	10
• SENSITIVA.....	11
• NUTRICIONAL.....	11
CEMENTO RADICULAR .....	11
• CEMENTO ACELULAR O PRIMARIO .....	11
• CEMENTO CELULAR O SECUNDARIO.....	12
HUESO ALVEOLAR.....	13
• HUESO COMPACTO .....	13
• HUESO TRABECULADO .....	14
AFECCIÓN DE LOS TEJIDOS PERIAPICALES .....	15
PROCESO INFLAMATORIO .....	16
FASES DE LA INFLAMACIÓN .....	17
1. LIBERACIÓN DE MEDIADORES.....	17
2. EFECTO DE LOS MEDIADORES.....	17
3. LLEGADA DE MOLÉCULAS Y CÉLULAS INMUNES AL FOCO INFLAMATORIO.....	17
4. REGULACIÓN DEL PROCESO INFLAMATORIO.....	17
5. REPARACIÓN .....	17
CRIOTERAPIA .....	18
JUSTIFICACIÓN .....	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	22
HIPÓTESIS .....	23
HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	23
HIPÓTESIS NULA .....	23
HIPÓTESIS ALTERNATIVA .....	23
OBJETIVOS .....	24
OBJETIVO GENERAL .....	24

## **CONTENIDO**

OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>VARIABLES .....</b>	<b>25</b>
VARIABLES INDEPENDIENTES .....	25
VARIABLES DEPENDIENTES .....	25
OPERACIÓN DE VARIABLES.....	25
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
TIPO DE ESTUDIO .....	26
UNIVERSO DE ESTUDIO.....	26
METODOLOGÍA.....	26
MATERIALES.....	26
PREPARACION DE LAS MUESTRAS .....	26
CRIOTERAPIA .....	28
.....	30
RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS .....	30
PROCEDIMIENTO HISTOLÓGICO: MANEJO DE LAS MUESTRAS .....	31
FIJACIÓN .....	31
PROCESAMIENTO DE TEJIDOS.....	31
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
G1.....	34
G2.....	34
G3.....	34
G4.....	34
G5.....	35
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>41</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>44</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema de la distribución de los grupos de estudio.....	28
<b>Figura 2.</b> Anestésicos utilizados: Xilacina y ketamina .....	29
<b>Figura 3.</b> Reactivo de LPS (e. coli) .....	29
<b>Figura 4.</b> Colocación de catéter 14G a través del tejido subcutáneo.....	29
<b>Figura 5.</b> Esquema en vista lateral de la implantación del catéter y la conexión entre la manguera y el tubo para el posterior flujo de la crioterapia en el G1 .....	30
<b>Figura 6.</b> (A) procedimiento de crioterapia en G1 con flujo continuo de solución salina a 25 °C. (B) flujo continuo de solución salina a temperatura ambiente en G2	30
<b>Figura 7.</b> Esquema del lomo de la rata representando el modelo propuesto para evaluar la crioterapia mostrando la distribución de los grupos de estudio y la implantación de los catéteres.....	31
<b>Figura 8.</b> Pentobarbital sódico utilizado para sacrificio de los animales .....	31
<b>Figura 9.</b> Recolección de muestras .....	32
<b>Figura 10.</b> Colocación de las muestras en frascos membretados con formol al 10% para su fijación .....	32
<b>Figura 11.</b> (A) muestra antes de su procesamiento. (B) corte inicial partiendo desde el centro de la referencia de tinta indeleble. (C) sección de la muestra con cortes longitudinales y paralelos al corte primario.....	33
<b>Figura 12.</b> Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo la crioterapia .....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 13.</b> Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo la crioterapia. En esta imagen se puede observar un defecto creado por la entrada del catéter .....	36
<b>Figura 14.</b> Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo irrigación a temperatura ambiente .....	36
<b>Figura 15.</b> Imagen histológica del grupo de LPS con solución a temperatura ambiente con un acercamiento a 40x .....	38
<b>Figura 16.</b> Acercamiento que muestra fibroblastos reactivos de la imagen anterior	37
<b>Figura 17.</b> Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y no hubo manipulación posterior .....	38
<b>Figura 18.</b> Imagen histológica a 40x del grupo con LPS sin manipulación posterior.....	38
<b>Figura 19.</b> Imagen histológica del grupo control donde se evaluó el tejido sano .....	39
<b>Figura 20.</b> Imagen histológica del grupo anterior con acercamiento, donde se puede observar menor cantidad de tejido inflamatorio por debajo del musculo.....	39
<b>Figura 21.</b> Imagen histológica del grupo control donde se evaluó el tejido sano con la aplicación de crioterapia.....	40
<b>Figura 22.</b> Imagen histológica del grupo de tejido sano con la aplicación de crioterapia con acercamiento.....	40

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

### **LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>GAG</b>	Glicosoaminoglicanos
<b>LP</b>	Ligamento periodontal
<b>LPS</b>	Lipopolisacáridos
<b>MEC</b>	Matriz extracelular
<b>MO</b>	Microscopio óptico
<b>PA</b>	Periodontitis apical
<b>SF</b>	Sustancia fundamental

**RESUMEN**

**Objetivo:** El objetivo de este proyecto es evaluar un modelo de estudio en ratas como medio para valorar la respuesta tisular y los cambios celulares posterior a la aplicación de crioterapia en tejido conectivo de ratas. **Introducción:** El termino crioterapia es derivado de la palabra griega “cryos”, que significa “frio”. La crioterapia ha sido utilizada para aplicaciones clinicas para el manejo del dolor desde 1960. Y en la actualidad, la crioterapia es aplicada para muchas ramas de la medicina incluyendo ortopedia, traumatología, fisioterapia, neurología, cirugía maxilofacial, cirugía plástica, cirugía dental, y recientemente, endodoncia. En endodoncia, se han realizado estudios en humanos donde se ha utilizado la crioterapia intraconducto para evaluar su efecto en el dolor postoperatorio en pacientes con pulpitis irreversible sintomática y asintomática, necrosis pulpar, periodontitis apical e incluso en dientes con tejidos apicales normales. Estos estudios han demostrado una disminución significativa en los niveles de dolor posoperatorio cuando se ha aplicado la crioterapia comparado con los grupos control. **Metodología:** Para este estudio fueron utilizadas dos ratas macho de 4-6 meses de edad. El lomo de cada una de ellas fue dividido en cinco para desarrollar los grupos de estudio. En el G1, G2 y G3 se inyectaron Lipopolisacáridos (LPS), mientras que el G4 y G5 fueron grupos control. A través del G1 y G2 se implantaron catéteres a través de los cuales se permitió el flujo de solución salina a 2.5 °C (crioterapia) y de solución salina a temperatura ambiente respectivamente. Posteriormente los animales fueron sacrificados y se tomaron las muestras de cada grupo para ser procesadas y finalmente observadas histológicamente al microscopio de luz. **Resultados:** En casi todos los grupos a excepción del A5 se observa inflamación aguda de grado leve, lo cual nos indica que no existen diferencias significativas entre los grupos de estudio. **Conclusión:** Se puede concluir que no se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudio, por lo que este modelo debe ser ajustado para obtener resultados más visibles.

## **INTRODUCCIÓN**

### **ENDODONCIA**

La endodoncia, como conjunto de conocimientos metódicamente formado y ordenado, constituye una ciencia, integrada en el conjunto de las ciencias de la salud. Su objetivo es el estudio de la estructura, la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares. En su ámbito integra las ciencias básicas y clínicas que se ocupan de la biología de la pulpa, así como la etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las enfermedades y lesiones de esta y de los tejidos perirradiculares asociados. El ámbito de la endodoncia incluye el diagnóstico diferencial y el tratamiento del dolor bucofacial de origen pulpar y periapical; los tratamientos para mantener la vitalidad; los tratamientos de conductos radiculares cuando es inviable conservar su vitalidad o cuando existe necrosis de la misma, con o sin complicación periapical; los tratamientos quirúrgicos para eliminar los tejidos periapicales inflamatorios consecuencia de patología pulpar, así como la resección apical, la hemisección y la radisectomía; el tratamiento de la afectación de la pulpa consecutiva a traumatismos, así como reimplante de dientes avulsionados; blanqueamiento de dientes con alteraciones del color, retratamiento de dientes que presentan un fracaso de un tratamiento endodóntico previo, y restauración de la corona dental mediante procedimientos que implican pernos y muñones situados en la zona antes ocupada por la pulpa <sup>(1)</sup>.

### **PULPA DENTAL**

La pulpa dentaria forma parte del complejo dentino-pulpar, que tiene su origen embriológico en la papila dental (tejido ectomesenquimático) durante la odontogénesis. La pulpa dental está formada principalmente de tejido conjuntivo laxo de tipo mesenquimático en la porción central. Se localiza en el centro de la cavidad que forman las estructuras mineralizadas y es por medio de la pulpa que el diente tiene vida.

## **INTRODUCCIÓN**

Es el único tejido blando del diente y se amolda interiormente a la forma dental. Es el tejido responsable de la creación de la dentina y de estimular la formación del esmalte (2).

La cámara pulpar es una cavidad central excavada en plena dentina, que desde el punto de vista morfológico reproduce la forma del elemento dentario, por lo que cambia según la anatomía de los dientes.

Del piso de la cámara pulpar salen dos o tres conductos que penetran en las raíces y terminan en uno o varios orificios en el vértice distal de la raíz. Dichos conductos se extienden, por tanto, desde la región cervical hasta el foramen apical o ápice radicular. Se denomina pulpa radicular a la porción tisular alojada en estos conductos. En el foramen apical la pulpa radicular se conecta directamente con el tejido periapical del ligamento periodontal (LP) a nivel del espacio indiferenciado de Black o periapice.

Durante el desarrollo de la raíz, la vaina epitelial de Hertwig es la que determina la forma y el número de raíces y, por ende, de los conductos. Generalmente, el resultado es un conducto principal situado en el centro de la raíz, que se abre en un agujero único central o ligeramente desviado en sentido distal. Sin embargo, pueden formarse conductos laterales o accesorios, como también terminar a manera de un delta apical, cuya complejidad varía de una pieza dentaria a otra. En caso de existir conductos laterales, el tejido pulpar suele establecer conexiones con el tejido periodontal.

A través del foramen apical, los vasos sanguíneos suministran nutrientes y remueven los productos de desecho (3).

## **COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LA PULPA**

Desde el punto de vista estructural la pulpa dental es un tejido conectivo de la variedad laxa, ricamente vascularizado e innervado. En su periferia (unión pulpa-predentina) se ubican los odontoblastos que son células especializadas que se encargan de sintetizar los distintos tipos de dentina.

Estas características biológicas sumadas al hecho de que la pulpa se encuentra totalmente rodeada por dentina mineralizada convierten a este tejido, en un tejido único en su grupo.

La pulpa está formada por un 75% de agua y por un 25% de materia orgánica. Esta última está constituida por células y matriz extracelular (MEC) representada por fibras y sustancia fundamental.

### POBLACIONES CELULARES DE LA PULPA

- **ODONTOBLASTOS:** Son las células específicas o típicas del tejido pulpar, situadas en su periferia y adyacente a la predentina. Los odontoblastos pertenecen tanto a la pulpa como a la dentina, porque si bien su cuerpo se localiza en la periferia pulpar, sus prolongaciones se alojan en los túbulos de la dentina. Los odontoblastos conforman por su disposición en empalizada a la capa odontoblástica. Los odontoblastos en la región coronaria alcanzan la cifra aproximada de 45. 000 por mm<sup>2</sup> y su número disminuye sensiblemente en la zona radicular. El tamaño celular es también mayor en la corona que en la raíz.

El odontoblasto maduro es una célula altamente diferenciada que ha perdido la capacidad de dividirse. Los nuevos odontoblastos que se originan en los procesos reparativos de la dentina lo hacen a expensas de las células ectomesenquimáticas o células madre de la pulpa dental, aunque algunos autores opinan que podrían derivar de los fibroblastos pulpares; sin embargo, este mecanismo es todavía desconocido. La fibronectina juega un importante papel mediador en la diferenciación de las células ectomesenquimales en odontoblastos.

- **FIBROBLASTOS:** Los fibroblastos son las células principales y más abundantes del tejido conectivo pulpar, especialmente en la corona, donde forman la capa denominada rica en células. En los procesos de reparación o de naturaleza inflamatoria del tejido conectivo suele variar su morfología, así como el número de sus células y el desarrollo de las organelas en el seno de estas. Es

decir, que los fibrocitos pueden diferenciarse y volver a ser fibroblastos ante distintos estímulos. En estas circunstancias se han identificado fenómenos de división celular y, por ello, se considera que los fibrocitos aún conservan cierta capacidad de regeneración.

Los fibroblastos tienen por función formar, mantener y regular el recambio de la matriz extracelular fibrilar y amorfa. Son células multifuncionales, pues tienen también la capacidad de degradar el colágeno, como respuesta ante distintos estímulos fisiológicos del medio interno. Existen poblaciones de fibroblastos fenotípicamente diferentes, que poseen distintas propiedades químicas y funciones, y que dan origen a los diversos tipos de colágeno.

- **CÉLULAS ECTOMESENQIMÁTICAS O CÉLULAS MADRE DE PULPA DENTAL:** Estas células son denominadas también mesenquimáticas indiferenciadas, pero es importante señalar que derivan del ectodermo de las crestas neurales. Constituyen la población de reserva pulpar por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos productores de dentina o en fibroblastos productores de matriz pulpar, según el estímulo que actúe sobre ellas.

El número de células mesenquimáticas disminuye con la edad, lo cual trae consigo una reducción en la capacidad de autodefensa de la pulpa. Generalmente, se ubican en la región subodontoblástica o en la proximidad de los capilares sanguíneos, por lo que suelen denominarse células perivasculares o pericitos. Esta variedad celular está estrechamente vinculada a la microvascularización pulpar.

Las células mesenquimáticas indiferenciadas del periapice son las que pueden dar lugar a distintas líneas celulares como: fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos y ocasionalmente odontoblastos como respuesta biológica, ante determinadas situaciones clínicas. Este tejido especializado periapical se diferencia del conectivo periodontal por su gran capacidad reaccional.

- **MACRÓFAGOS:** Por su capacidad de fagocitosis y por participar en el mecanismo de defensa, pertenecen al sistema fagocítico mononuclear y como todas las células de este sistema, tienen su origen en los monocitos. Los macrófagos tisulares recién llegados de la sangre, con células con gran capacidad de diferenciación, pues deben pasar por distintos estados de activación, para alcanzar su capacidad funcional. Al surgir un estímulo inflamatorio los macrófagos residentes proliferan y se expanden.

En los procesos inflamatorios los histiocitos se transforman en macrófagos libres, incrementan su tamaño y adquieren mayor capacidad quimiotáctica (movimiento) y de fagocitosis. Su función consiste en digerir microorganismos, remover bacterias y eliminar células muertas. Además de su actividad fagocítica, están en relación con la función inmunológica (al fagocitar partículas extrañas y presentarlas a los linfocitos). También elaboran enzimas del tipo de las hidrolasas ácidas, que facilitan su migración dentro del tejido conectivo. A nivel del tejido pulpar el macrófago estimulado juega un papel clave en la respuesta inflamatoria e inmune durante la pulpitis.

- **CÉLULAS DENDRÍTICAS:** Las células dendríticas de la pulpa denominadas “verdaderas” se caracterizan por expresar moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, por poseer una morfología ramificada con tres o más prolongaciones citoplasmáticas y un diámetro longitudinal de 50 µm. Estas células se distribuyen en la pulpa configurando un retículo. Si bien existen dos áreas en las que se acumulan preferentemente: la región perivascular en la zona más interna de la pulpa y la región paraodontoblástica en la zona más externa de la misma.

La función de las células dendríticas de la pulpa consiste en participar en el proceso de iniciación de la respuesta inmunológica primaria. Las células capturan los antígenos, los procesan y luego migran hacia los ganglios linfáticos regionales a través de los vasos linfáticos. Una vez allí las células maduran transformándose en potentes células presentadoras de antígenos que posteriormente exponen a

las células linfoides tipo I. La cooperación entre macrófagos y las verdaderas células dendríticas de la pulpa controlarían la respuesta inmunológica secundaria a nivel pulpar a través de los linfocitos memoria.

- **OTRAS CÉLULAS DEL TEJIDO PULPAR:** Al examinar los componentes de la pulpa normal humana, se pueden identificar otros tipos celulares como: linfocitos, células plasmáticas, y en ocasiones, eosinófilos y mastocitos. La existencia de estas células es muy evidente en los procesos inflamatorios.

## FIBRAS

- **FIBRAS COLÁGENAS:** Las fibras de colágeno están constituidas por colágeno tipo I, el cual representa aproximadamente el 60% del colágeno pulpar. Son escasas y dispuestas en forma irregular en la pulpa coronaria, mientras que en la zona radicular adquieren una disposición paralela y están en una mayor concentración.
- **FIBRAS RETICULARES:** Están formadas por delgadillas fibrillas de colágeno tipo III asociadas a fibronectina. Ambos tipos de colágeno I y III son sintetizados por el fibroblasto. Estas fibras se disponen al azar en el tejido pulpar, excepto a nivel de la región odontoblástica donde se insinúan entre las células y constituyen el plexo de Von Korff. En este plexo las fibras reticulares son más gruesas y adoptan el aspecto de fibras en “sacacorchos”.
- **FIBRAS ELÁSTICAS:** En el tejido pulpar las fibras elásticas son muy escasas y están localizadas exclusivamente en las delgadas paredes de los vasos sanguíneos aferentes. Su principal componente es la elastina.
- **FIBRAS DE OXITALÁN:** En la pulpa dental en desarrollo se ha identificado la presencia de fibrillas onduladas de oxitalán. Se les considera como fibras elásticas inmaduras y de función aun no conocida.

### **SUSTANCIA FUNDAMENTAL**

La sustancia fundamental (SF) o matriz extracelular amorfa, está constituida, principalmente, por proteoglucanos y agua. Los proteoglucanos, están formados por un núcleo proteico y cadenas laterales de glicosaminoglicanos (GAG). En la sustancia fundamental del tejido pulpar en dientes recién erupcionados el GAG predominante es el dermatán sulfato. En cambio, en pulpas maduras el ácido hialurónico es el componente esencial y en menor proporción se encuentra el dermatán y el condroitin sulfato.

El ácido hialurónico o hialuronan le confiere viscosidad y cohesión, por lo que el conectivo es gelatinoso. Esta propiedad, más el refuerzo fibrilar, es lo que permite extirpar la pulpa sin que se rompa durante los tratamientos endodónticos. Además, este proteoglicano es el encargado de mantener la fluidez, la permeabilidad de la SF y de regular el transporte de metabolitos e impedir la difusión de microorganismos.

La SF se comporta como un verdadero medio interno, a través del cual las células reciben los nutrientes provenientes de la sangre arterial; igualmente los productos de desecho son eliminados en él para ser transportados hasta la circulación eferente. Con la edad disminuye la actividad funcional de la SF amorfa.

### **ACTIVIDADES FUNCIONALES DE LA PULPA**

- **INDUCTORA:** El mecanismo inductor del complejo dentino-pulpar se pone de manifiesto durante la amelogénesis, ya que es necesario el depósito de dentina para que se produzca la síntesis y el depósito del esmalte.
- **FORMATIVA:** La pulpa tiene como función esencial formar dentina. La capacidad dentinogénica se mantiene mientras dura su vitalidad. La elaboración de la dentina está a cargo de los odontoblastos.
- **NUTRITIVA:** La pulpa nutre la dentina a través de las prolongaciones odontoblásticas y de los metabolitos que provenientes del sistema vascular pulpar se difunden a través del licor dentinario.

- **SENSITIVA:** La pulpa, mediante los nervios sensitivos, responde, ante los diferentes estímulos o agresiones, con dolor dentinario o pulpar. En la sensibilidad de la pulpa y la dentina no interesa la naturaleza del agente estimulante, ya que la respuesta es siempre de tipo dolorosa. El dolor dentinal es agudo y de corta duración, mientras que el dolor pulpar es sordo y pulsátil, persistiendo durante cierto tiempo; estos datos son de importancia para el diagnóstico clínico diferencial.
- **DEFENSIVA O REPARADORA:** El tejido pulpar tiene una notable capacidad reparativa, formando dentina ante las agresiones. Las dos líneas de defensa son:
  1. formación de dentina peritubular, con estrechamiento de los conductos, para impedir la penetración de microorganismos hacia la pulpa. Esta esclerosis dentinaria representa la primera defensa pulpar frente al avance de una caries.
  2. formación de dentina terciaria, reparativa o de irritación. Esta dentina es elaborada por los nuevos odontoblastos que se originan de las células ectomesenquimáticas o células madre de la pulpa <sup>(4)</sup>.

## AFECCIÓN DE LA PULPA DENTAL

Mientras varios factores físicos y químicos pueden causar irritación e incluso necrosis de la pulpa, las causas más comunes de la inflamación pulpar (pulpitis) son las bacterias y/o sus productos bacterianos entrando a la pulpa a través de caries profundas o filtración de restauraciones. La reacción inflamatoria en la pulpa inicia mucho antes de la invasión bacteriana al tejido pulpar. La reacción inflamatoria es primero iniciada por la interacción entre los antígenos bacterianos con el sistema inmune local. Siempre y cuando la lesión cariosa no entre en contacto con la pulpa, es probable que la inflamación sea reversible. Sin embargo, cuando la lesión cariosa alcanza la pulpa y la barrera de tejido duro es penetrada, las bacterias pueden invadir la pulpa <sup>(5)</sup>.

## **INTRODUCCIÓN**

Después de la progresión de la caries dental o de la fractura coronal, aparece una infección bacteriana y una subsecuente respuesta inflamatoria en la pulpa dental, y la presión interna de la cámara pulpar incrementa significativamente, resultando en una isquemia del tejido pulpar con dolor severo. Para aliviar el dolor es necesario eliminar la infección de la pulpa dental por medio del procedimiento endodóntico. Sin embargo, si este no se lleva a cabo, la isquemia se desarrolla deteriorando la circulación sanguínea, llevando así, a la necrosis pulpar y afección periapical (3).

Para que se produzca la respuesta inflamatoria pulpar no es necesario que las bacterias alcancen físicamente la pulpa. Por el contrario, existen evidencias experimentales que demuestran que antígenos bacterianos y/o subproductos metabólicos pueden difundirse a través de los túbulos dentinarios y provocar respuestas inmunes en la pulpa dental. Durante la respuesta inmune pulpar pueden formarse también complejos inmunes y liberarse, por fagocitosis, enzimas proteolíticas extracelulares que agravan y empeoran la inflamación pulpar. En definitiva, la pulpitis se produce por un mecanismo inmunopatológico (6).

Cuando se lesiona la pulpa dental se produce una inflamación conocida como pulpitis y como parte de esta reacción, habrá un aumento de la permeabilidad vascular y la filtración de líquidos hacia los tejidos circundantes. A diferencia de la mayoría de los tejidos blandos, la pulpa carece de espacio para edematizarse.

Por este motivo, es muy importante el hecho de realizar un tratamiento endodóntico adecuado, que consiste en el desbridamiento de tejido tanto necrótico como vital del conducto radicular, por medio de instrumentación mecánica e irrigación con agentes químicos (7).

### **TEJIDOS PERIAPICALES**

### **LIGAMENTO PERIODONTAL**

Es el tejido conectivo que vincula al cemento radicular con el hueso alveolar, por lo tanto, está limitado por cemento y lamina dura, es decir, hueso cortical del alveolo. El

ancho del ligamento es de aproximadamente  $0.25 \text{ mm} \pm 50\%$ . Esta constituido esencialmente por haces de fibras colágenas que pueden clasificarse así:

- a. Fibras de la cresta alveolar
- b. Fibras horizontales
- c. Fibras principales u oblicuas
- d. Fibras apicales
- e. Fibras de la zona interradicular

Las células del LP son: fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos, osteoclastos, cementoclastos, células epiteliales, células mesenquimatosas indiferenciadas (pericitos, en la periferia de vasos sanguíneos), macrófagos, mastocitos y eosinófilos.

### FUNCIONES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL

- **FORMATIVA:** contiene las células necesarias para neoformación de fibras (fibroblastos); de hueso (osteoblastos); de cemento (cementoblastos); de SF (fibroblastos y otras que pueden diferenciarse a partir de pericitos).
- **REMODELACIÓN:** durante el movimiento dental fisiológico, el ligamento interviene en la formación y resorción del cemento y hueso así como de fibras. Proceso similar ocurre durante el acomodo del periodonto ante las fuerzas oclusales y en la reparación de las lesiones.
- **FÍSICA:** 1. Provee un forro de tejido blando para proteger a los vasos y nervios de lesiones por fuerzas mecánicas. 2. Permite la transmisión de las fuerzas oclusales al hueso. 3. Brinda la inserción del diente al hueso. 4. Favorece la conservación de los tejidos gingivales en relación adecuada con los dientes. 5. Ofrece resistencia contra el impacto de las fuerzas oclusales (amortiguamiento).

- **SENSITIVA:** El LP se encuentra muy innervado por fibras nerviosas sensitivas con capacidad para transmitir sensaciones táctiles, de presión y dolor por las vías trigeminales. Los fascículos nerviosos pasan hacia el LP desde la región periapical y por los conductos del hueso alveolar que siguen la trayectoria de los vasos sanguíneos. Se dividen en fibras individuales mielinizadas que al final pierden sus vainas de mielina y confluyen en uno de cuatro tipos de terminación neural: terminaciones nerviosas que poseen configuración arbórea; corpúsculos tipo Ruffini, localizados de modo primario en la zona apical; formas en espiral, registradas sobre todo en la región radicular media; y terminaciones tipo huso, que se encuentran rodeadas por una cápsula fibrosa y se localizan primordialmente en el ápice. Las terminaciones libres son responsables de la sensación de dolor. El ligamento también posee propioceptores que dan información concerniente a tensión, movimiento y posiciones (sensibilidad profunda). Gracias a estos receptores, la presencia de una laminilla fina (10-30 micrones) ubicada entre los dientes es fácilmente identificable, especialmente durante la oclusión. De la misma manera, es sabido que un movimiento que lleve a los dientes del maxilar inferior al contacto con los superiores se detiene por reflejo y se transforma en movimiento de apertura, si se descubre una partícula inerte al masticar (arena, tierra, etc.). De esta manera los receptores y propioceptores juegan un papel importante en la regulación de las fuerzas y los movimientos de la masticación.
- **NUTRICIONAL:** El LP aporta nutrientes al cemento, hueso y la encía por medio de los vasos sanguíneos. Además, provee drenaje linfático a los vasos provenientes de papilas interdentarias y encía marginal.

## CEMENTO RADICULAR

Existen dos clases de cemento radicular:

- **CEMENTO ACELULAR O PRIMARIO:** Cubre desde el cuello hasta la mitad de la raíz, se forma antes de que el diente alcance su primer contacto

oclusal. Las fibras de Sharpey constituyen la mayor parte de la estructura del cemento acelular. Casi todas se insertan en ángulos rectos, pero otras entran desde varias direcciones distintas. Además, se observan otras fibrillas dispuestas paralelamente con la superficie radicular. Las fibras de Sharpey conforman el sistema fibroso extrínseco y son producidas por los fibroblastos. El sistema fibroso intrínseco es producido por los cementoblastos y está compuesto por fibras orientadas paralelamente a la superficie radicular.

- **CEMENTO CELULAR O SECUNDARIO:** Se forma luego de que el diente llega al primer contacto oclusal, y en respuesta a exigencias funcionales durante toda la vida. A diferencia del cemento primario, posee células atrapadas en su matriz. El cemento celular se deposita sobre el cemento primario durante todo el periodo funcional del diente y también es producido por cementoblastos que al quedar atrapados en el tejido cementoide se denominan cementocitos. Estas células residen en lagunas que se unen entre sí por procesos citoplasmáticos que pasan por canalículos en el cemento, de la misma forma los cementocitos están unidos a los cementoblastos de la superficie, la presencia de los cementocitos permite el transporte de nutrientes a través del cemento y contribuye al mantenimiento de la vitalidad de este tejido mineralizado.

El depósito de cemento es un proceso continuo que prosigue a velocidades cambiantes. La formación del cemento es más rápida en las zonas apicales, donde compensa la erupción del diente, que por sí misma compensa la atrición. Entre los 11 y 70 años de edad, el grosor promedio del cemento aumenta tres veces con el incremento mayor en la región apical. Cuando la deposición de cemento sobrepasa los niveles normales formando masas voluminosas en la porción apical de la raíz dentaria se habla de Hiper cementosis.

La etiología de esta entidad, varía y aun no se comprende por completo. En dientes sin antagonistas, es interpretada como un esfuerzo por seguir el proceso eruptivo para lograr el contacto antagonista. En dientes con afección apical como

proceso reparativo del espacio que ocupara el tejido fibroso. En traumatismo oclusal como refuerzo radicular en respuesta a las exigencias funcionales.

Cuando en ese intento de reparación con tejido mineralizado, ya sea de tipo cementoide o de tipo osteoide; resulta una obliteración del espacio que ocupara el LP, fusionando el tejido dentario con el tejido óseo alveolar, al fenómeno se le da el nombre de Anquilosis. Esta sucede en los dientes con resorción cementaria, hecho que sugiere que podría ser una forma de reparación anormal. También puede presentarse luego de la inflamación periapical crónica, el reimplante dental y el traumatismo oclusal, así como en torno a dientes retenidos. La anquilosis causa resorción radicular y su reemplazo gradual por tejido óseo, por tal razón los dientes reimplantados que se anquilosan pierden sus raíces luego de 4, 5 o 10 años y se exfolian con frecuencia.

## HUESO ALVEOLAR

Es tejido óseo que contiene alveolos o cavidades donde van alojadas las raíces de las piezas dentarias. Al fragmento de hueso que queda entre un alveolo y otro adyacente se denomina cresta o septum interdental o interalveolar. Las porciones óseas que cubren las superficies bucales y linguales son llamadas tablas óseas bucales y linguales respectivamente.

El hueso alveolar está conformado por dos clases de hueso:

- **HUESO COMPACTO:** también llamado lamina dura o corteza osea, consiste en una cubierta de hueso sólido, compacto, que protege al hueso trabeculado de traumas físicos y químicos en toda su extensión, inclusive la parte interna del alveolo esta recubierta por esta lamina de hueso, la cresta alveolar también esta recubierta por lamina dura y en radiografías orto radiales o en interproximales (de mordida) se aprecia a una distancia aproximada de 1 o 2 mm de la unión esmalte-cemento en condiciones de salud periodontal y aun en gingivitis. Cuando la lámina dura sufre reabsorción rápida como en el caso de periodontitis rápidamente

evolutiva, queda expuesto el hueso esponjoso o trabeculado, pudiendo perderse una importante cantidad de hueso de soporte dentario hasta el punto de exfoliar la pieza.

Generalmente cuando ocurre reabsorción de cresta interdental, los procedimientos terapéuticos actuales ofrecen poca o ninguna garantía de recuperarlos a niveles normales. Por lo tanto, la evidencia radiográfica de presencia o ausencia de lámina dura para detectar la reabsorción osea en sus etapas iniciales, es de vital importancia para que el pronóstico sea favorable, con un tratamiento oportuno que prevenga el progreso de la enfermedad. Es importante subrayar que cuando existe evidencia radiográfica de disminución de la altura de la cresta a niveles subnormales, pero al mismo tiempo existe evidencia de continuidad e integridad de lámina dura, se puede afirmar que al momento de tomar la radiografía la reabsorción “no está activa” pues permitió la neoformación de corteza protectora.

La lamina dura adyacente al LP, esta perforada por numerosos conductos de Volkmann por los cuales pasan vasos y nervios desde el hueso alveolar hacia el ligamento. En esta corteza también se insertan los haces de fibras de Sharpey, similar a las que quedan atrapadas en cemento radicular.

- **HUESO TRABECULADO:** También llamado hueso esponjoso por la similitud arquitectónica con ese material. Está compuesto por trabéculas óseas que son formadas por osteoblastos, las trabéculas se anastomosan creando una especie de red o malla de hueso que caracteriza a este tejido.

Los osteocitos residentes en las lagunas del hueso calcificado están unidos entre sí y son los osteoblastos de la superficie osea, mediante prolongaciones citoplasmáticas que pasan por conductillos que comunican a las lagunas.

Ese mecanismo de comunicación sirve para el intercambio regular de los niveles de calcio y fosfato en sangre, utilizando para ello diferentes mecanismos de control hormonales.

Por razones no muy bien conocidas la calcificación osea forma laminillas concéntricas que rodean vasos sanguíneos formando la estructura llamada sistema haversiano que nutre a todas las células. A la unidad del sistema haversiano, que representa la forma en que los osteocitos se comunican por prolongaciones citoplasmáticas dentro de canalículos se le llama osteon (8,9,10,11).

## **AFECCIÓN DE LOS TEJIDOS PERIAPICALES**

Las enfermedades periapicales agudas son entidades inflamatorias de los tejidos que rodean a los dientes, principalmente en la región apical. Cuando la enfermedad pulpar no es atendida a tiempo o de forma adecuada, se extiende a lo largo del conducto y llega a los tejidos periapicales a través del foramen apical (12,13).

La periodontitis apical (PA) consiste en el establecimiento de un proceso inflamatorio localizado en los tejidos periapicales, como consecuencia de la infección y posterior desvitalización del diente. La respuesta del huésped a la persistencia del estímulo microbiano se traduce en una lucha constante por la defensa y mantención del equilibrio mediante procesos de inflamación, reabsorción y destrucción tisular, con la subsecuente generación de una lesión osteolítica periapical, posible de visualizar radiográficamente y de identificar histológicamente como granuloma periapical o quiste radicular (14).

En consecuencia, para promover la cicatrización de la PA es necesario eliminar los microorganismos que se encuentran dentro del sistema de conductos radiculares (5). Se ha reportado que el tratamiento endodóntico tiene un alto índice de éxito con la contribución de herramientas mejoradas en diagnóstico, antibióticos y avances en biomateriales (15).

### **PROCESO INFLAMATORIO**

La inflamación es uno de los mecanismos básicos de defensa frente a la agresión, consiste en una reacción local del tejido lesionado. Existen muchos agentes en el medio ambiente que pueden causar una respuesta inflamatoria, entre ellos microorganismos, agentes físicos, químicos y traumatismos. Los cambios intrínsecos al daño celular se traducen en la liberación o activación de mediadores químicos que conducen a cambios en la microcirculación y el tejido conectivo. Se inicia así un proceso inflamatorio tendiente a generar un exudado con las células necesarias para eliminar el agente y el tejido dañado por medio de fagocitosis. En este caso la respuesta inmunitaria forma parte de la inmunidad innata, es decir, aquella que está presente desde el nacimiento, lista para actuar, mientras que las respuestas de la inmunidad adquirida o adaptativa se generan al contactar las células específicas del sistema inmune con el antígeno para el cual tienen especificidad preformada <sup>(16)</sup>.

La inflamación es un proceso constituido por una serie de eventos consecutivos que conducen a la eliminación del agente o del tejido dañado mediante un mecanismo biológico básico que presentan los seres vivos: la fagocitosis. Una vez eliminado el agente y el tejido dañado mediante este proceso, se produce la reparación de la zona por regeneración y-o cicatrización. La cicatrización es un proceso de reparación o regeneración de un tejido alterado, resultando en un tejido cicatrizal o un tejido igual al original. En caso de no ser así, la persistencia del agente conduce a inflamación crónica; puede también ocurrir su diseminación y eventualmente, la muerte <sup>(16)</sup>.

Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y, por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes.

Clásicamente, la inflamación se ha considerado integrada por los cuatro signos de Celso: Calor, Rubor, Tumor y Dolor. Como veremos posteriormente, el calor y rubor se deben a las alteraciones vasculares que determinan una acumulación sanguínea en el foco. El tumor se produce por el edema y acumulo de células inmunes, mientras que el dolor es producido por la actuación de determinados mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor (16,17,18).

### FASES DE LA INFLAMACIÓN

De forma esquemática podemos dividir la inflamación en cinco etapas:

1. **LIBERACIÓN DE MEDIADORES:** Son moléculas, la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por el mastocito bajo la actuación de determinados estímulos.
2. **EFEECTO DE LOS MEDIADORES:** Una vez liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.
3. **LLEGADA DE MOLÉCULAS Y CÉLULAS INMUNES AL FOCO INFLAMATORIO:** Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.
4. **REGULACIÓN DEL PROCESO INFLAMATORIO:** Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso.
5. **REPARACIÓN:** Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria (19).

## CRIOTERAPIA

El término crioterapia es derivado de la palabra griega “cryos”, que significa “frio”. En fisioterapia, significa disminución o incremento de la temperatura de los tejidos para fines terapéuticos. En realidad, la crioterapia no implica implementar frio sino extraer calor <sup>(20)</sup>. La magnitud del cambio de temperatura y las alteraciones biofísicas en los tejidos dependen de la diferencia entre la temperatura del objeto y la aplicación de frio o calor, el tiempo de exposición, la conductividad térmica de los tejidos, y el tipo de agente utilizado para aplicar el calor o el frio. El uso de este tipo de terapia en tejidos humanos causa cambios en la temperatura local del huésped <sup>(21,22)</sup>.

En el 2500 a.C., los antiguos egipcios utilizaban bajas temperaturas para tratar heridas e inflamación. En la antigua Grecia, la crioterapia era usada por Hipócrates, quien recomendaba el uso local o sistémico de aplicación de frio por razones terapéuticas. El objetivo de la crioterapia es remover calor y así reducir la inflamación. La crioterapia ha sido utilizada para aplicaciones clínicas para el manejo del dolor desde 1960 <sup>(20)</sup>. Y en la actualidad, la crioterapia es aplicada para muchas ramas de la medicina incluyendo ortopedia <sup>(23)</sup>, traumatología, fisioterapia, neurología <sup>(24)</sup>, cirugía maxilofacial <sup>(25)</sup>, cirugía plástica, cirugía dental <sup>(26)</sup>, y recientemente, endodoncia <sup>(6,27)</sup>.

Las tres respuestas fisiológicas básicas de los tejidos después de la aplicación ya sea de calor o frio son un incremento o disminución del flujo sanguíneo local, estimulación o inhibición de receptores neuronales en la piel y en los tejidos subcutáneos, y un incremento o disminución en la actividad metabólica. Evidencia clínica y fisiológica sugiere que la terapia con frio, en diferentes formas, puede reducir el dolor musculoesquelético, espasmos musculares, distensión de tejido conectivo, tiempo de conducción nerviosa, hemorragia e inflamación <sup>(22)</sup>.

Bleakly reportó que la terapia con frio parecía ser eficiente para limitar la inflamación y reducir el dolor a corto plazo <sup>(23)</sup>. Según la ley de Van't Hoff, la crioterapia causa vasoconstricción y enlentece el metabolismo celular al limitar las reacciones

## **INTRODUCCIÓN**

bioquímicas. La vasoconstricción produce antiedema y se logra una reducción del dolor después de la reducción de la temperatura debido al bloqueo de las terminaciones nerviosas que produce el frío. La intensidad del efecto de vasoconstricción alcanza el valor más alto a una temperatura de 15 °C <sup>(28)</sup>. De hecho, algunos estudios han demostrado que una temperatura más alta en la piel que produce efectos terapéuticos (anestesia, analgesia o relajación muscular que permite el movimiento posterior al tratamiento de áreas dolorosas) es de 16 °C. Se logró la disminución de temperatura de 30 °C a 17 °C después de solo 15 minutos de terapia de frío. La disminución de la temperatura del cuerpo también disminuye la conducción nerviosa periférica, y cuando llega a menos de 15 °C, la conductividad nerviosa se desactiva completamente.

La aplicación de hielo reduce la temperatura tisular, el flujo sanguíneo, dolor y metabolismo celular, lo cual minimiza el grado de daño tisular y la lesión causada por hipoxia secundaria. Una reducción importante en la actividad enzimática local y una vasoconstricción local profunda ocurre después de la aplicación de hielo. El efecto analgésico es producido por una combinación de la liberación disminuida de mediadores químicos del dolor y una propagación más lenta de las señales neuronales del dolor. Además, el metabolismo se reduce más del 50%, lo que permite una mejor difusión de oxígeno en los tejidos lesionados.

A pesar del uso generalizado de la crioterapia en la medicina, hay poca evidencia científica para los métodos utilizados en la aplicación eficiente. Una comprensión sistemática de los factores como el tiempo necesario para enfriar un área, el tiempo durante el cual esta área permanece lo suficientemente fría después de retirar el agente de enfriamiento, y la cantidad de enfriamiento que se extiende más allá del área en contacto con el agente de enfriamiento, ha tenido poca atención hasta ahora en la literatura científica.

En odontología, la crioterapia ha sido utilizada después de procedimientos quirúrgicos intraorales como cirugía periodontal, extracciones, y colocación de implantes <sup>(29)</sup>.

## **INTRODUCCIÓN**

En endodoncia, se han realizado estudios en humanos donde se ha utilizado la crioterapia intraconducto para evaluar su efecto en el dolor postoperatorio en pacientes con pulpitis irreversible sintomática y asintomática, necrosis pulpar, PA e incluso en dientes con tejidos apicales normales. Estos estudios han demostrado una disminución significativa en los niveles de dolor posoperatorio cuando se ha aplicado la crioterapia comparado con los grupos control (6,24,27,30,31). Una forma de aplicar la crioterapia a los tejidos perirradiculares inflamados es por medio de la irrigación intraconducto con sustancias frías después de la preparación del sistema de conductos radiculares. Esto ha demostrado ser una tarea más sencilla cuando se usa un sistema de riego por presión negativa, como el sistema EndoVac (Kerr Endo, Orange, Country, CA). La micro cánula del sistema se puede colocar a la longitud total de trabajo y se puede utilizar para aspirar el irrigante con un flujo continuo (22,32).

Un estudio in vitro publicado recientemente mostro que una irrigación intraconducto constante con solución salina fría a 2.5 °C con presión negativa reduce la temperatura de la superficie radicular externa más de 10 °C, manteniendo dicha temperatura por 5 minutos, lo cual, de acuerdo con los estudios antes mencionados, puede ser suficiente para producir un efecto local antiinflamatorio en los tejidos perirradiculares (22).

Debido al amplio estudio de la crioterapia que se encuentra actualmente en el área de la medicina y basándonos en la literatura, en este estudio se llevó a cabo el proceso de crioterapia durante 5 minutos con el fin de evaluar la efectividad de un modelo en ratas, esperando ser validado para posteriormente llevarlo a cabo en diferentes periodos de tiempo (33).

### **JUSTIFICACIÓN**

Cuando se habla de la necesidad de un tratamiento endodóntico, automáticamente se relaciona con la presencia de un proceso inflamatorio antes, durante y después del procedimiento clínico. Es por eso, que, se implementara el uso de crioterapia en tejido conectivo de ratas con la finalidad de evaluar histológicamente la respuesta inflamatoria, y de este modo, validar la efectividad de este modelo en diferentes periodos de tiempo.

## ***PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA***

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En el presente estudio se plantea el desarrollo de un modelo experimental para evaluar la crioterapia en tejido conectivo de ratas como método para valorar la respuesta inflamatoria en diferentes periodos de tiempo.

## **HIPÓTESIS**

### **HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La aplicación de crioterapia en este modelo nos permitirá observar diferencias (si es que las hay) en la presencia o ausencia de células inflamatorias, pudiendo corroborar su efectividad o no para estudiar la respuesta inflamatoria local en tejido conectivo de ratas.

### **HIPÓTESIS NULA**

Posterior a la aplicación de crioterapia en este modelo, no se observan diferencias significativas en la respuesta tisular del tejido conectivo en ratas, por lo que se determina que este modelo no es un método efectivo para estudiar la crioterapia.

### **HIPÓTESIS ALTERNATIVA**

Posterior a la aplicación de crioterapia, se observa una reducción de células inflamatorias, por lo que se valida este modelo como método efectivo para estudiar la crioterapia en tejido conectivo de ratas.

### **OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general de este proyecto es evaluar un modelo de estudio en ratas como medio para valorar la respuesta tisular y los cambios celulares posterior a la aplicación de crioterapia en tejido conectivo de ratas.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Comparar la respuesta tisular entre la crioterapia y el resto de los grupos evaluados, valorando si tiene alguna eficacia sobre el proceso inflamatorio en tejido conectivo de ratas.
2. Establecer las diferencias celulares entre los grupos evaluados posterior a la aplicación de crioterapia o no.

**VARIABLES**

**VARIABLES INDEPENDIENTES**

1. Edad de los animales
2. Peso de los animales
3. Sexo de los animales

**VARIABLES DEPENDIENTES**

1. Grado de inflamación presente, ya sea leve, moderada o severa.
2. Patrón de inflamación presente, ya sea aguda, crónica o mixta.
3. Eficacia de la crioterapia.

**OPERACIÓN DE VARIABLES**

Se evaluará la efectividad de la crioterapia como una alternativa para reducir la inflamación local en tejido conectivo de ratas posterior a la inyección con lipopolisacáridos (LPS). Posteriormente, los animales serán sacrificados para realizar cortes histológicos y observar el tipo de inflamación presente al microscopio óptico (MO).

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **TIPO DE ESTUDIO**

Experimental.

#### **UNIVERSO DE ESTUDIO**

Dos ratas de 4-6 meses con un peso de 135-160 gramos. Anestésicos: xilacina y ketamina, así como pentobarbital sódico. Reactivo de LPS de escherichia coli. Catéter calibre 14G y manguera para venoclisis. Solución salina a 2.5 °C y a temperatura ambiente. Microscopio óptico.

#### **METODOLOGÍA**

#### **MATERIALES**

Para este proyecto fueron necesarias dos ratas de 4 a 6 meses de edad, con un peso de 135-160 gramos. Los anestésicos utilizados fueron ketamina (Cheminova) y xilacina (PiSA). El reactivo de LPS de escherichia coli fue adquirido en SIGMA. Se utilizaron 30 jeringas hipodérmicas de 10 ml con solución salina (PiSA farmacéutica 0.9%). La manguera para venoclisis fue de la casa PiSA y el catéter calibre 14G de la casa BD Insyte. El pentobarbital sódico fue de la marca PiSA. Y finalmente la formalina al 10% fue de la casa Hycel-Reactivos químicos.

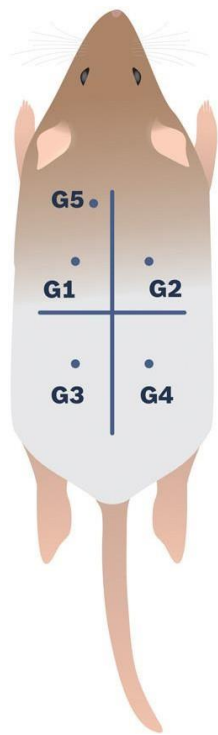
#### **PREPARACION DE LAS MUESTRAS**

Para este estudio se dividió a cada animal en cinco grupos de estudio.

- (G1): Inyección de LPS y aplicación de crioterapia. (porción superior izquierda del lomo de la rata).
- (G2): Inyección de LPS e irrigación con solución salina a temperatura ambiente. (porción superior derecha del lomo de la rata).

## MATERIALES Y MÉTODOS

- (G3): Inyección de LPS sin manipulación posterior. (porción inferior izquierda del lomo de la rata).
- (G4): Grupo control negativo de tejido sano sin manipulación. (porción inferior derecha del lomo de la rata).
- (G5): Grupo control de tejido sano con aplicación de crioterapia. (porción superior izquierda del lomo de la rata, por encima del G1)(Figura 1).



**(G1):** Inyección de LPS y aplicación de crioterapia.

**(G2):** Inyección de LPS e irrigación con solución salina a temperatura ambiente.

**(G3):** Inyección de LPS sin manipulación posterior.

**(G4):** Grupo control negativo de tejido sano sin manipulación.

**(G5):** Grupo control de tejido sano con aplicación de crioterapia.

Fig. 1. Esquema de la distribución de los grupos de estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS



Fig. 2. Anestésicos utilizados: Xilacina (PiSA) y ketamina (Cheminova).

Los animales recibieron la antisepsia con solución de yodo y fueron afeitados. Posteriormente fueron anestesiados a través de una inyección intraperitoneal con xilacina (10 mg/kg)(PiSA) y ketamina (25 mg/kg)(Cheminova) (Figura 2). Una vez anestesiados, se inyectó un volumen de .5 ml de LPS de escherichia coli (SIGMA) (Figura 3) en el tejido subcutáneo de los grupos G1, G2 y G3. Transcurridos 30 minutos posteriores a la inyección del LPS, se prosiguió con la crioterapia.



Fig. 3. Reactivo de LPS (*e. coli*) (SIGMA).

## CRIOTERAPIA

En los grupos G1 y G2, se implanto un catéter estéril calibre 14G (BD Insyte) traspasando el tejido de extremo a extremo, de tal modo que ambos extremos del catéter estuvieran externos al tejido subcutáneo (Figura 4). Posteriormente se conectó el catéter a la manguera de venoclipis (PiSA), mientras que el extremo opuesto fue cortado para ajustar la punta de una jeringa hipodérmica de 10 ml sin aguja. Una vez ajustados ambos extremos se inició con la aplicación de la crioterapia por medio de un flujo continuo de solución salina (PiSA farmacéutica 0.9%) a 2.5 °C durante 5 minutos (Figura 5 y 6), el cual fue vertido en la jeringa hipodérmica en el extremo superior de la manguera de venoclipis antes mencionada. Finalmente, el flujo de solución salina fue recolectado en una jeringa hipodérmica vacía hasta culminar con los 5 minutos.

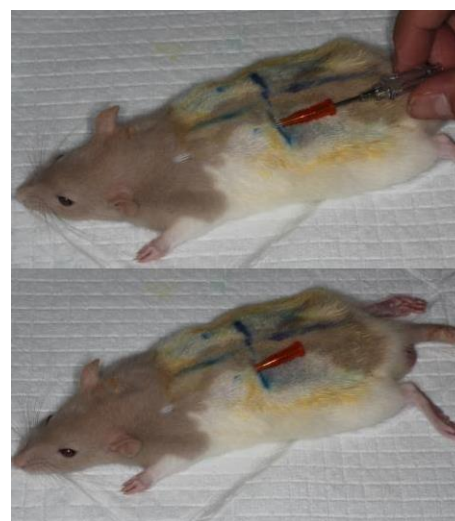


Fig. 4. Colocación de catéter 14G a través del tejido subcutáneo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El mismo procedimiento fue llevado a cabo en el G2 utilizando solución salina a temperatura ambiente durante 5 minutos (Figura 7)

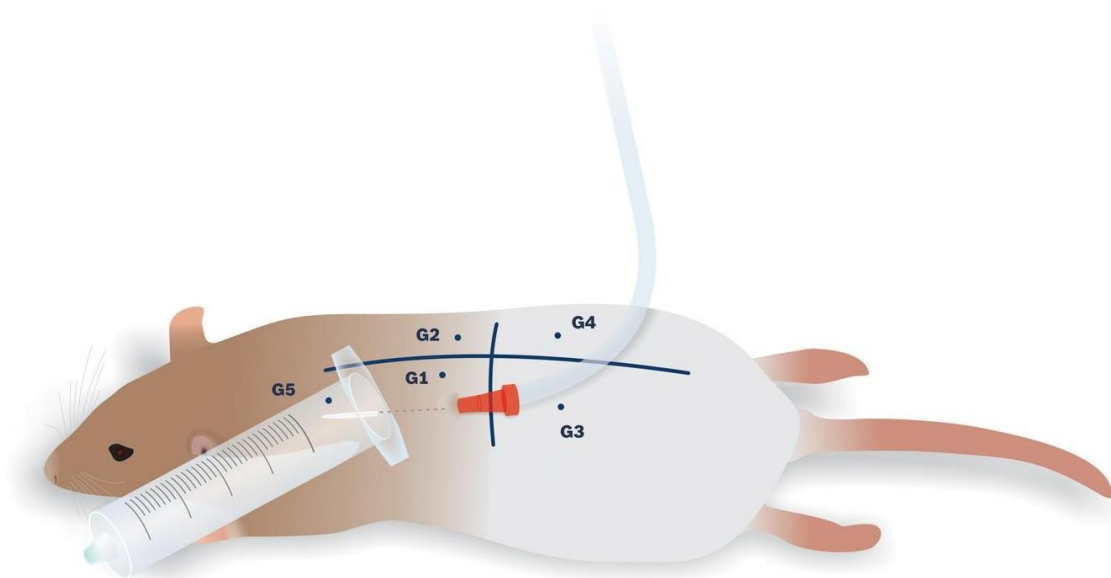


Fig. 5. Esquema en vista lateral de la implantación del catéter y la conexión entre la manguera y el tubo para el posterior flujo de la crioterapia en el G1.

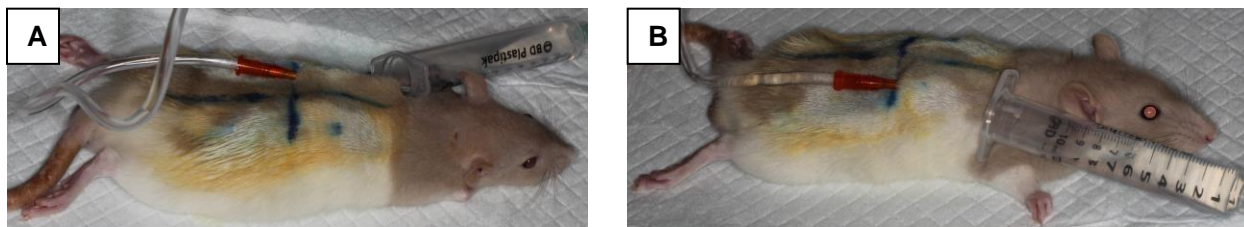


Fig. 6. (A) procedimiento de crioterapia en G1 con flujo continuo de solución salina a 2.5 °C. (B) Flujo continuo de solución salina a temperatura ambiente en G2.

## MATERIALES Y MÉTODOS

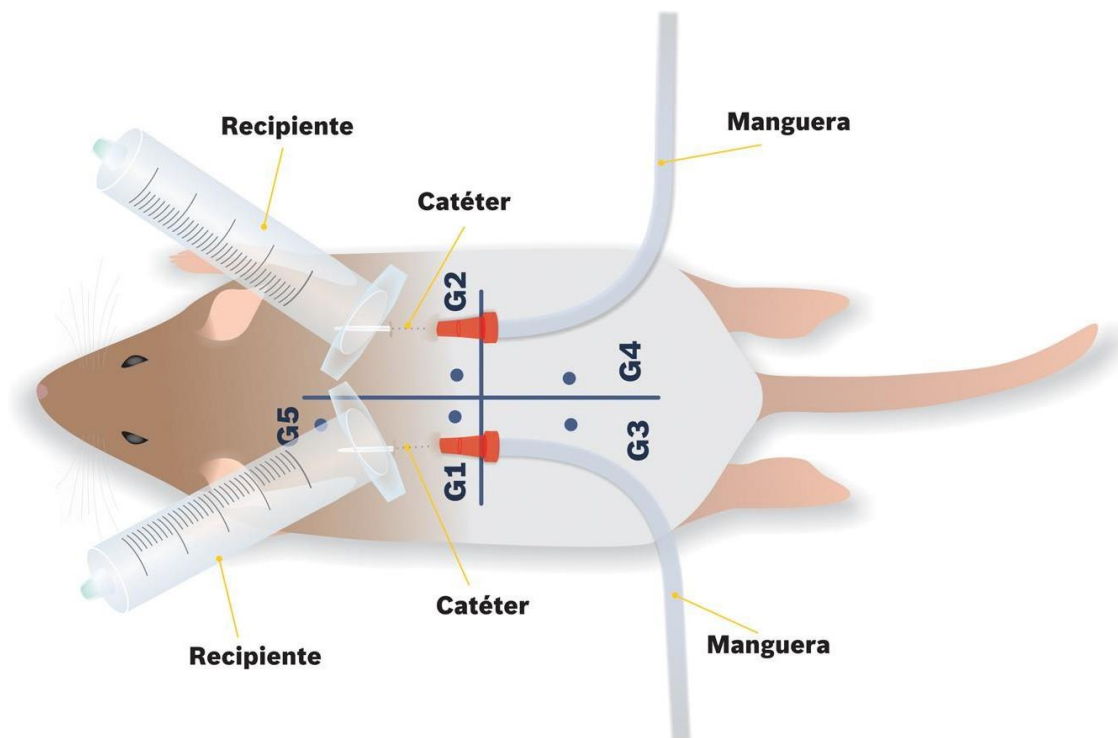


Fig. 7. Esquema del lomo de la ratona representando el modelo propuesto para evaluar la crioterapia mostrando la distribución de los grupos de estudio y la implantación de los catéteres para llevar a cabo el flujo de solución salina.

## RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para recolección de las muestras de estudio fue necesario sacrificar a los animales con una sobredosis de pentobarbital sódico, utilizando una inyección intraperitoneal de 1 ml (Figura 8).

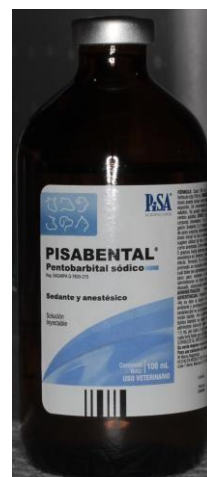


Fig. 8. Pentobarbital sódico utilizado para sacrificio de los animales.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Posteriormente, con un kit de disección básico (PiSA) y un bisturí número 15 se realizaron cortes con una extensión de aproximadamente 3 cm x 3 cm de cada grupo y fueron colocados en formalina 10% (Hycel-Reactivos químicos) para su fijación y posterior observación al MO (Figura 9).



**Fig. 9. Recolectión de las muestras.**

## **PROCEDIMIENTO HISTOLÓGICO: MANEJO DE LAS MUESTRAS**

### ***FIJACIÓN***

Posterior a la toma de muestras, estas fueron introducidas en solución de formol al 10% (formalina) con una relación mínima de volumen por peso de 10:1 y recolectadas en frascos de plástico para evitar derrames y permitir una mejor manipulación. Los frascos fueron



**Fig. 10. Colocación de las muestras en frascos membretados con formol al 10% para su fijación.**

etiquetados e identificados con códigos correspondientes al animal y al grupo estudiado (Figura 10). Se procura agitar cada frasco antes de la colocación en la caja de transporte. Conforme al tamaño de la muestra y de la temperatura ambiente, los tejidos fueron fijados entre 20 y 22 horas posteriores a la toma.

### ***PROCESAMIENTO DE TEJIDOS***

Las muestras se recibieron para ser procesadas en las instalaciones de Ciencias de la Salud, Valle de las Palmas, donde se separaron e identificaron para iniciar el proceso de tratamiento para los tejidos de las muestras. Cada muestra fue seccionada longitudinalmente, partiendo de la referencia marcada con tinta indeleble, realizando en

## MATERIALES Y MÉTODOS

todas las muestras cortes paralelos al corte primario; con esto se evidenciaron superficies seriadas del tejido a observar. Se incluyeron cinco cortes de cada muestra para procesamiento, inclusión e imbibición en parafina (Figura 11).

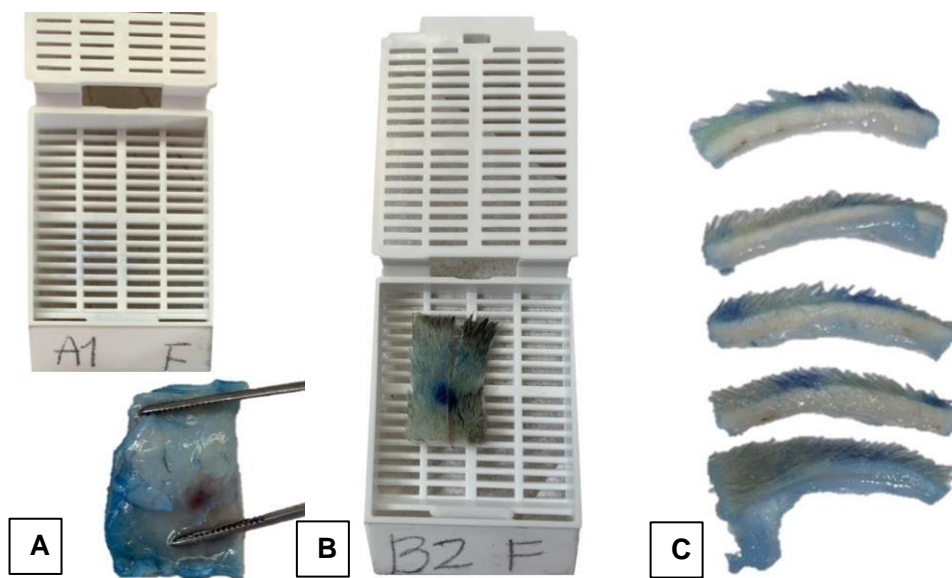


Fig. 11. (A) Muestra antes de su procesamiento. (B) Corte inicial partiendo desde el centro de la referencia de tinta indeleble. (C) Sección de la muestra con cortes longitudinales y paralelos al corte primario.

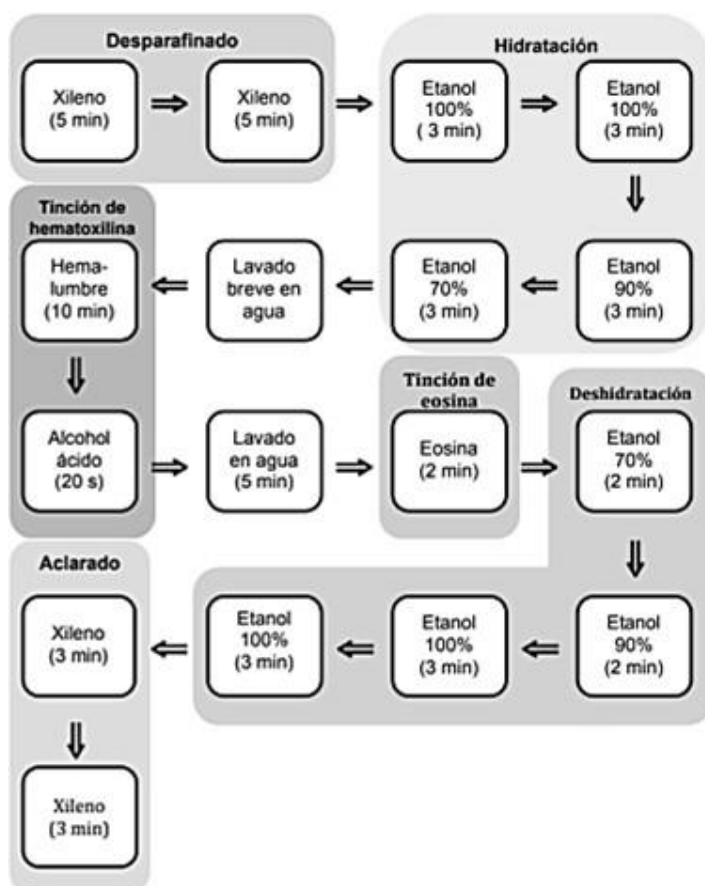
Posteriormente, las cápsulas con el tejido fueron tratadas en el procesador de tejidos modelo SP-120 siguiendo el siguiente protocolo:

Vaso N°	Reactivo	Tiempo de inmersión Horas:Minutos	Velocidad de agitación	
			rpm.	Valor en el programa
1	Formol	01:00	60	1
2	Formol	01:00	60	1
3	Alcohol 70%	01:30	70	2
4	Alcohol 80%	01:30	70	2
5	Alcohol 96%	01:30	70	2
6	Alcohol 100%	01:00	70	2
7	Alcohol 100%	01:00	70	2
8	Alcohol 100%	01:00	70	2
9	Xylol	01:30	70	2
10	Xylol	01:30	60	1
11	Parafina	02:00	60	1
12	Parafina	02:00	60	1

## MATERIALES Y MÉTODOS

Pasadas 16 horas, y una vez realizada la imbibición de los tejidos en parafina, se procedió a realizar la inclusión de los tejidos en bloques de parafina de grado histológico. Para esta etapa se realizó la orientación de las muestras conforme al protocolo para su observación al MO.

Se realizaron cortes en el microtomo de 5 micrómetros aproximadamente, los cuales fueron colocados en la tina de flotación, para ser situados en los portaobjetos. Posteriormente se procedió a realizar la siguiente técnica de tinción con hematoxilina y eosina:



Finalmente, los tejidos teñidos fueron sellados con resina histológica y cubiertos con cubreobjetos #1.

## **RESULTADOS**

En el presente estudio y a partir de los hallazgos histológicos se pudo observar poca diferencia entre los grupos estudiados:

### **G1**

En el grupo donde se inyectó LPS y se aplicó crioterapia se encontró inflamación de tipo aguda de grado leve. Se pudo observar la presencia leve de neutrófilos y eosinófilos de forma moderada. Por otro lado, se observó vasodilatación, reacción fibroblástica y hemorragia moderada (Figura 12 y 13).

### **G2**

En el grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo flujo con solución salina a temperatura ambiente se encontró inflamación de tipo aguda de grado leve-moderado. Se pudo observar la presencia moderada de neutrófilos, mientras que de forma leve se observaron eosinófilos y células cebadas. Finalmente, se pudo apreciar vasodilatación y reacción fibroblástica. Como hallazgo importante se observó presencia de fibroblastos reactivos (Figura 14, 15 y 16).

### **G3**

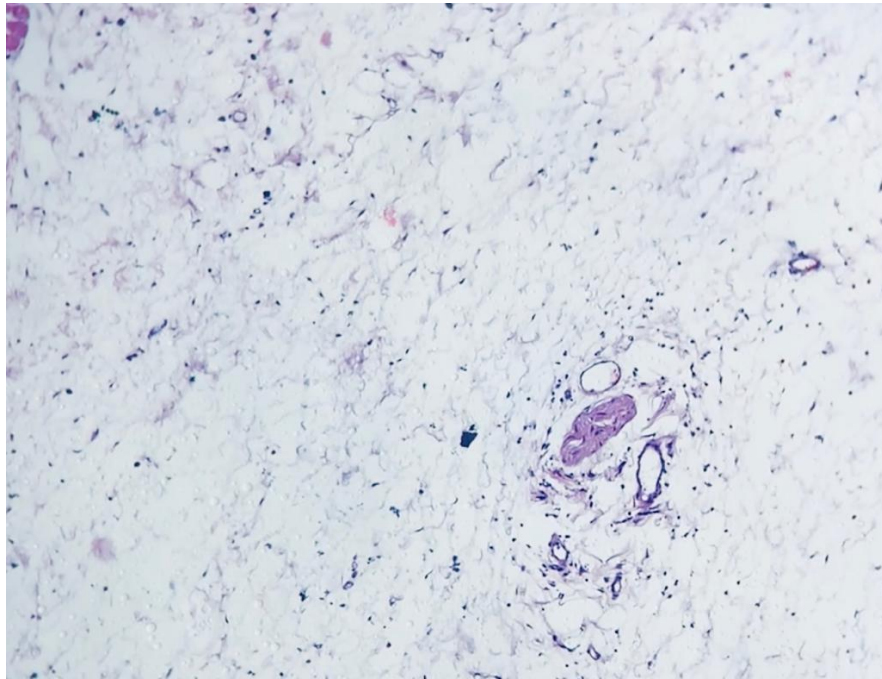
En el grupo donde se aplicó la inyección de LPS sin llevarse a cabo manipulación posterior se encontró inflamación aguda de grado leve. Se pudo observar la presencia leve de neutrófilos, así como vasodilatación y reacción fibroblástica (Figura 17 y 18).

### **G4**

En el grupo control donde se evaluó el tejido sano sin manipulación se encontró inflamación aguda de grado leve. Se pudo observar la presencia tanto de neutrófilos como de eosinófilos. Por otro lado, se apreció vasodilatación leve y reacción fibroblástica. Como hallazgo importante se observó congestión vascular (Figura 19 y 20).

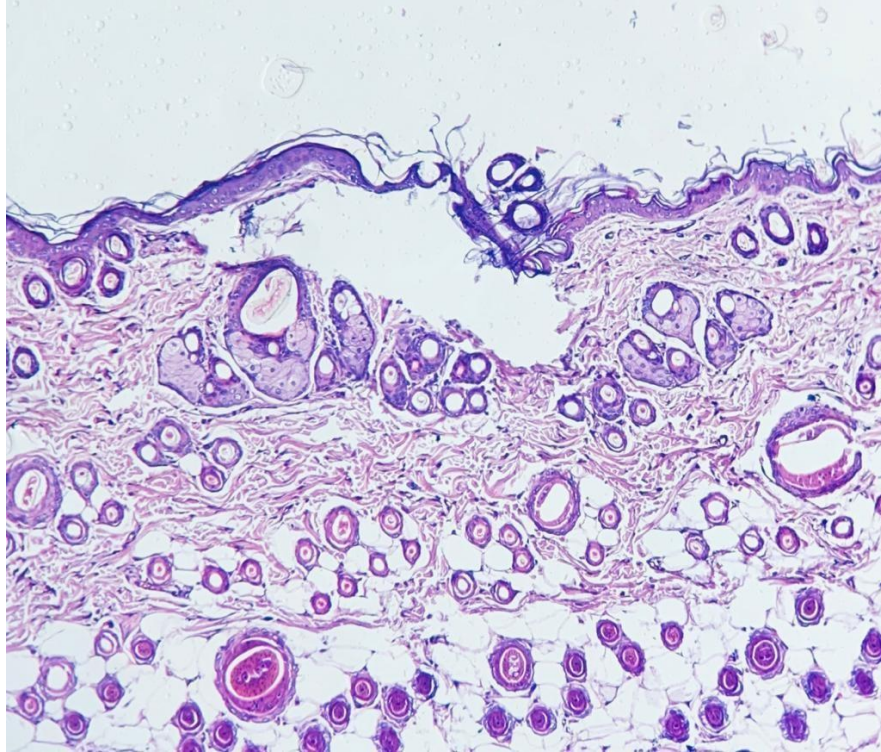
### G5

En el grupo control donde se evaluó tejido sano con aplicación de crioterapia se encontraron datos de inflamación aguda con un grado de nulo a leve. Se pudo observar la presencia de neutrófilos y de vasodilatación (Figura 21 y 22).

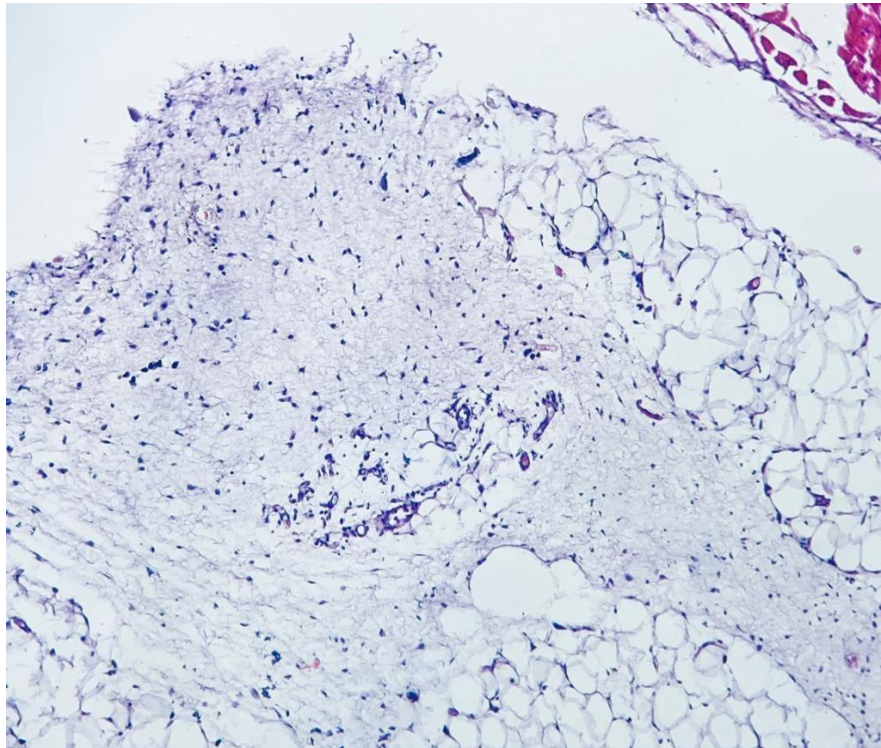


**Fig. 12.** Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo la crioterapia. Se pudo observar una inflamación aguda de grado leve, con presencia de neutrófilos y eosinófilos. Por otro lado, se apreció vasodilatación, hemorragia moderada y reacción fibroblástica.

## RESULTADOS



**Fig. 13.** Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo la crioterapia. En esta imagen se puede observar un defecto creado por la entrada del catéter.



**Fig. 14.** Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y se llevó a cabo irrigación a temperatura ambiente. Pudiéndose observar mayor inflamación en comparación con el grupo donde se estudió la crioterapia, así como respuesta fibroblástica.

## RESULTADOS

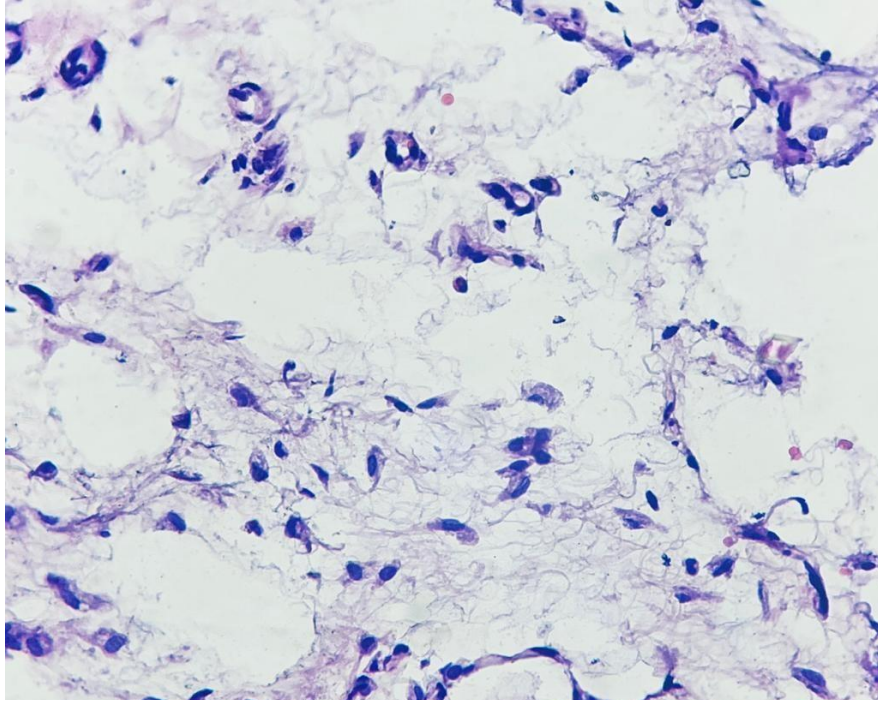


Fig. 15. Imagen histológica del grupo de LPS con solución a temperatura ambiente con un acercamiento a 40x. Se pudo observar una inflamación aguda de leve a moderada. Por otro lado, hubo presencia de neutrófilos, y en menor cantidad de eosinófilos. Finalmente, se pudo apreciar la presencia de vasodilatación y reacción fibroblástica.

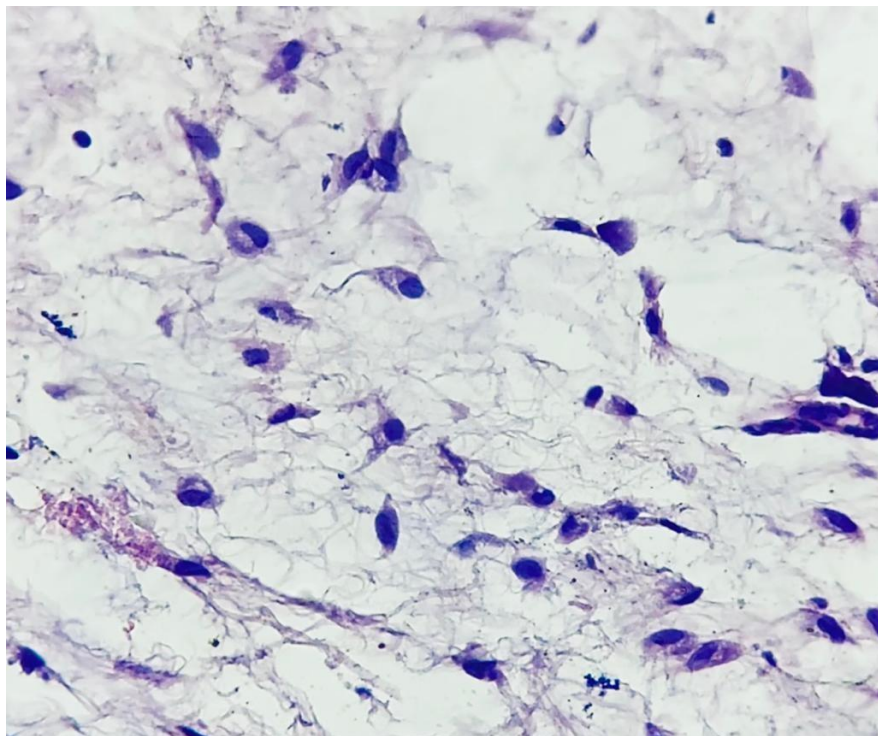


Fig. 16. Acercamiento que muestra fibroblastos reactivos de la imagen anterior.

## RESULTADOS

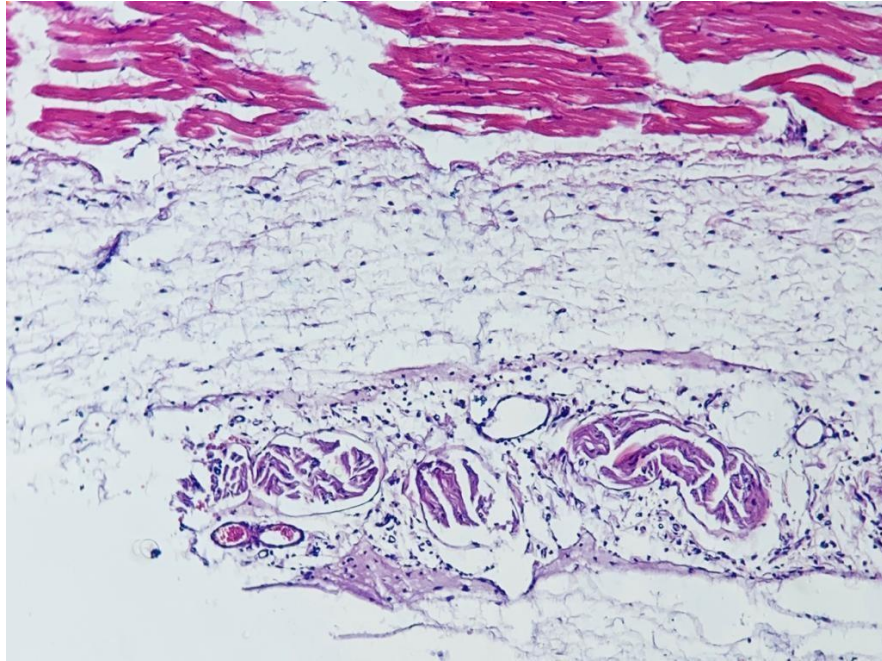


Fig. 17. Imagen histológica a 10x del grupo donde se inyectó LPS y no hubo manipulación posterior. Se pudo observar una inflamación aguda ligeramente mayor en comparación con los otros grupos. Se apreció la presencia de neutrófilos y algunos linfocitos en cercanía de tejido nervioso, así como vasodilatación y reacción fibroblástica.

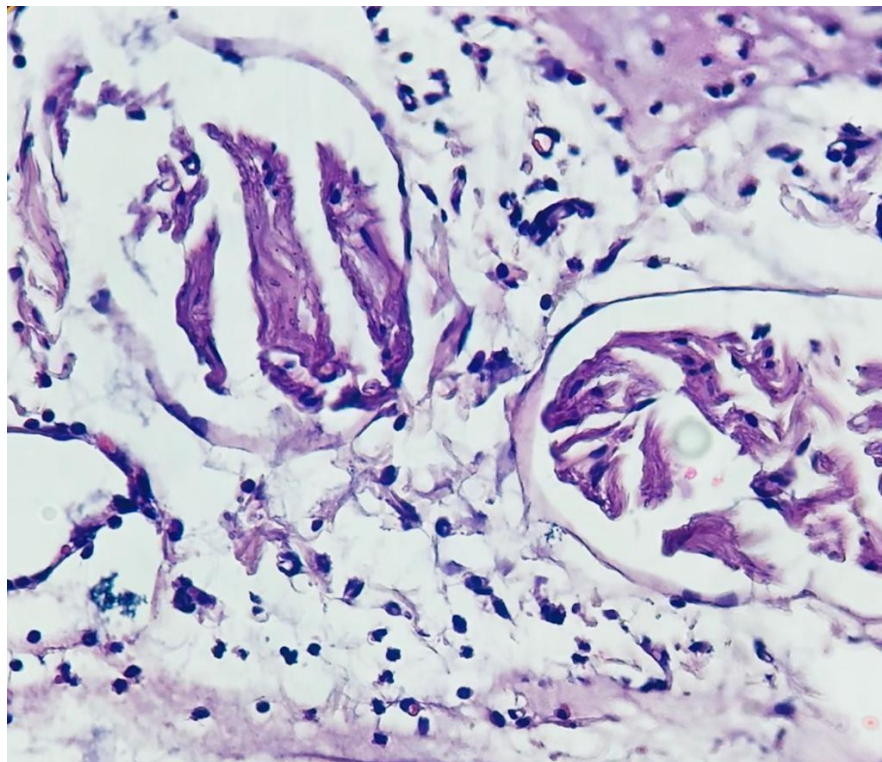


Fig. 18. Imagen histológica a 40x del grupo anterior. Se pudo observar una inflamación aguda ligeramente mayor en comparación con los otros grupos. Se apreció la presencia de neutrófilos y algunos linfocitos en cercanía de tejido nervioso.

## RESULTADOS

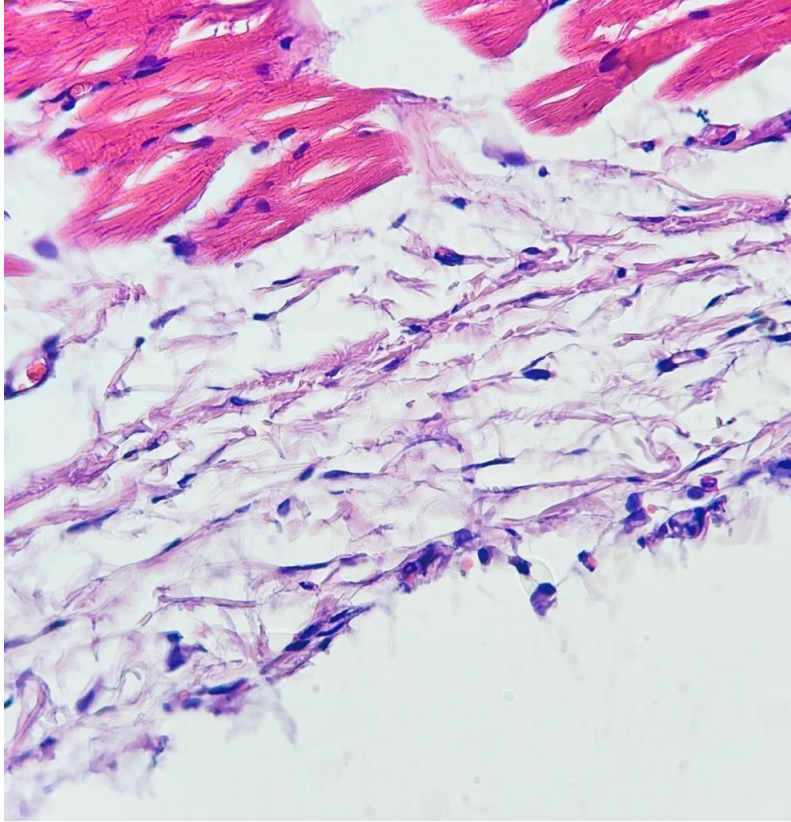


Fig. 19. Imagen histológica del grupo control donde se evaluó el tejido sano. Se observaron escasas células inflamatorias. Se apreció la presencia de neutrófilos y eosinófilos.

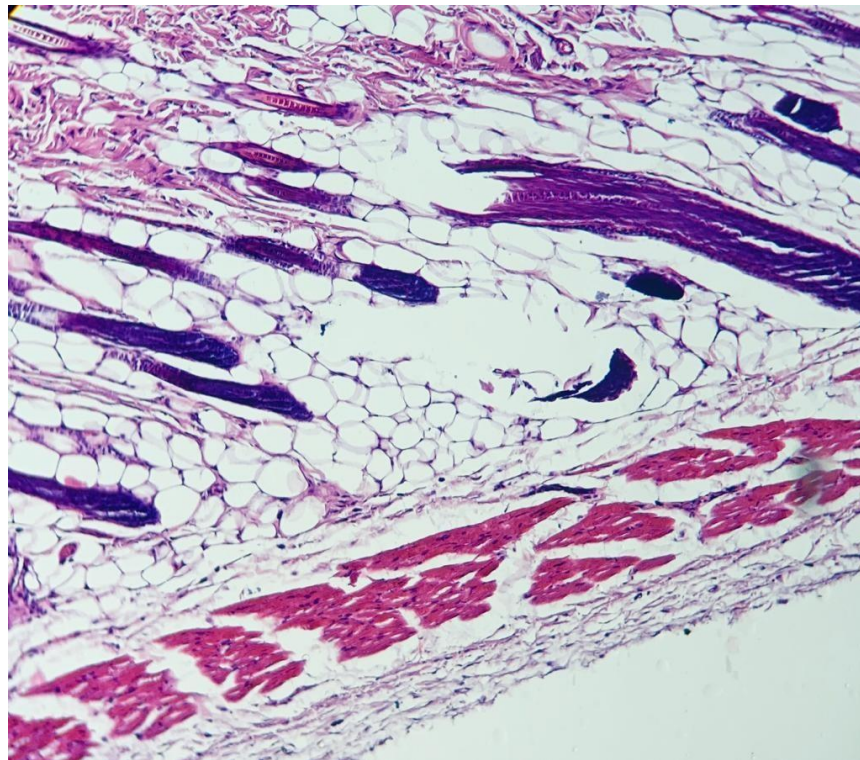


Fig. 20. Imagen histológica del grupo anterior con acercamiento, donde se puede observar menor cantidad de tejido inflamatorio por debajo del musculo.

## RESULTADOS

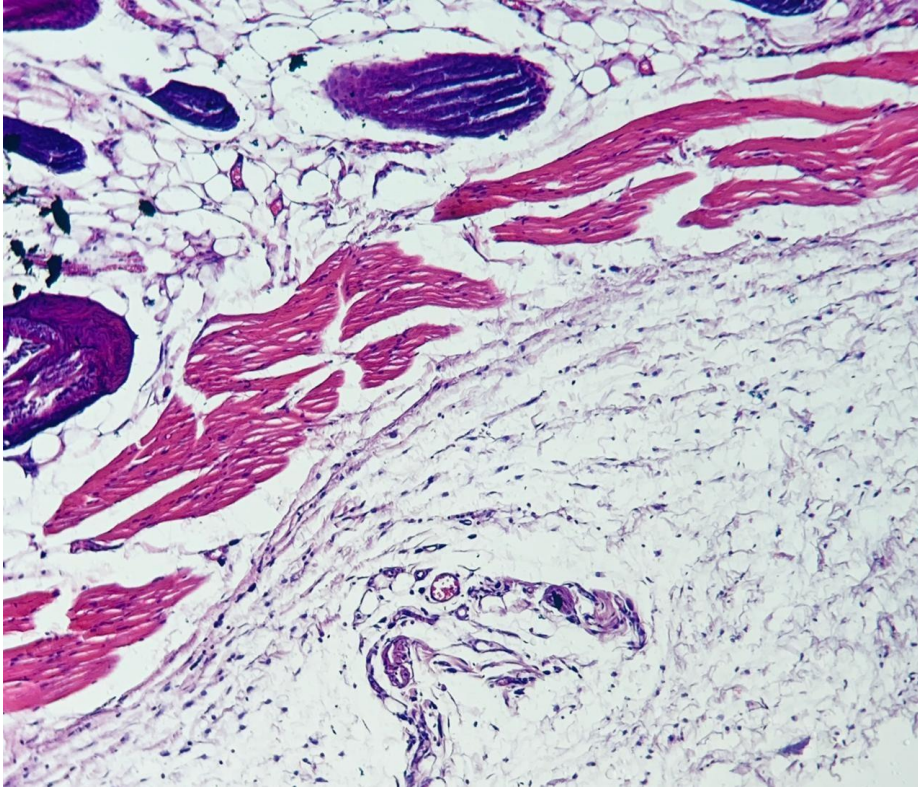


Fig. 21. Imagen histológica del grupo control donde se evaluó el tejido sano con la aplicación de crioterapia. Presencia de nula a leve de inflamación aguda, así como neutrófilos y vasodilatación.

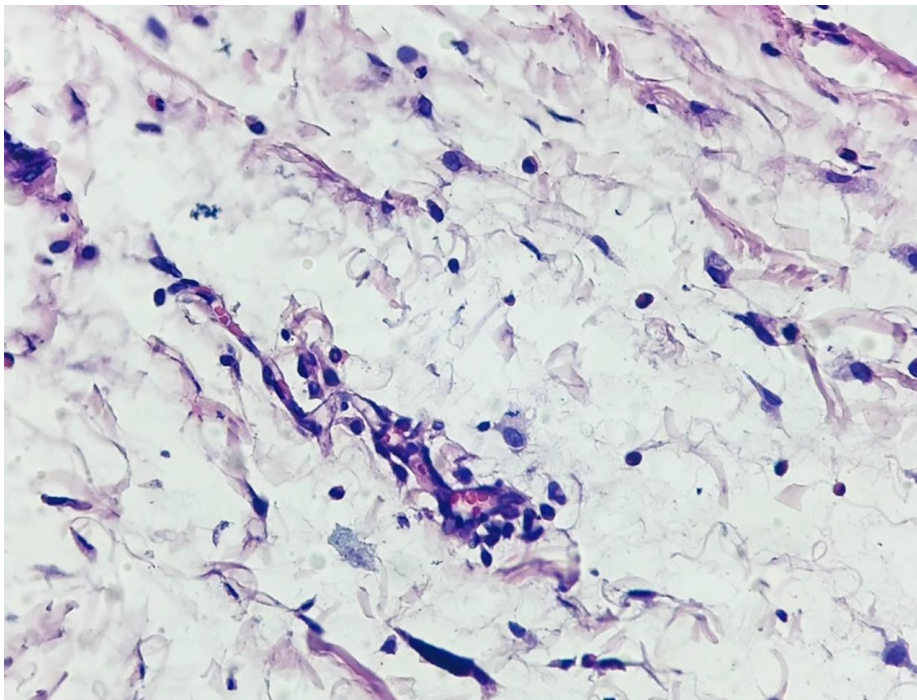


Fig. 22. Imagen histológica del grupo anterior con acercamiento. Presencia de nula a leve de inflamación aguda, así como neutrófilos y vasodilatación.

**DISCUSIÓN**

A partir de los hallazgos encontrados, aceptamos la hipótesis nula que establece que posterior a la aplicación de crioterapia en este modelo, no se observan diferencias significativas en la respuesta tisular del tejido conectivo en ratas, por lo que se determina que este modelo no es un método efectivo para estudiar la crioterapia, sin embargo, no se descarta la posibilidad de su validación a partir de algunos ajustes en el procedimiento experimental.

A lo largo de la historia en las áreas de ciencias de la salud se han publicado diversos estudios validando a la crioterapia como una buena opción para la reducción del proceso inflamatorio, y, por ende, para reducir el dolor en nuestros pacientes. Sin embargo, no existen publicaciones que estudien la efectividad de la crioterapia en tejido conectivo de ratas.

La reacción tisular está afectada por la forma y el tamaño del material implantado en los estudios histopatológicos. Mientras existen estudios donde se ha probado la aplicación subcutánea directa, la implantación de materiales en tubos se ha defendido en otros (34,35,36). Para esto, se han utilizado tubos de silicón, polietileno, teflón o dentina. Aplicando las pruebas de materiales en tubos se simula las condiciones clínicas. Cuando se compara con la aplicación directa del material, este método ayuda a proporcionar estabilidad del material en el lugar y logra la estandarización de la interfase entre el material y el tejido. Así mismo, se obtiene un modelo que se asemeja al sistema de conductos. En este estudio fueron utilizados catéteres estériles de poliuretano biocompatibles de calibre 14G para simular las condiciones clínicas endodónticas en el tejido conectivo de los animales. Las reacciones a los tubos en este estudio fueron similares a los publicados por Torneck (35) y Makkes y col. (37), quienes encontraron que los tubos de polietileno causaban poca o ninguna reacción al tejido conectivo subcutáneo. Investigaciones reportan que existen algunos síntomas de inflamación en las regiones donde se implantan los tubos hasta la segunda semana, y esta infiltración inflamatoria disminuye después de la tercera semana; esta reacción es resultado del trauma producido durante la colocación del tubo (38,39,40). A diferencia de estos estudios,

## **DISCUSIÓN**

nuestro experimento fue de corta duración, en donde las ratas no permanecieron con los catéteres implantados durante un largo periodo de tiempo, sin embargo, en un futuro se debería considerar este modelo para estudiar diferentes tiempos de experimentación.

Por otro lado, algunos estudios y protocolos mencionan que inmediatamente después a la inyección con LPS se crea una reacción inflamatoria de tipo aguda <sup>(41)</sup>, en nuestro estudio permitimos un margen de 30 minutos posteriores a la inyección para asegurarnos de que la reacción inflamatoria fuera mas acentuada. Sin embargo, en nuestros resultados e imágenes histológicas, no se logró observar diferencias significativas entre los grupos de estudio.

De acuerdo con estudios de crioterapia y según diversos autores se habla de que la temperatura del irrigante, así como el tiempo de irrigación son factores importantes en la obtención de los resultados. En un estudio publicado por el Dr. Vera y cols., en 2015, se llevo a cabo un experimento en donde se realizó una irrigación intraconducto en dientes extraídos con solución salina a 2.5 °C con presión negativa, obteniendo como resultados una disminución en la temperatura radicular externa mayor a 10 °C durante al menos 4 minutos. Basándonos en este y otros estudios, nuestro experimento fue llevado a cabo utilizando una irrigación con solución salina a 2.5 °C <sup>(22,27,31)</sup>. Por otro lado, como se mencionó anteriormente, el tiempo de irrigación es un factor importante a tomar en cuenta, sin embargo no se ha determinado de forma concreta cual es el tiempo ideal de acción para la crioterapia, de acuerdo con las investigaciones limitadas en este campo, 4 minutos serian suficientes para iniciar un efecto antiinflamatorio en la zona del procedimiento, por lo tanto, en este estudio se llevo a cabo la crioterapia durante 5 minutos esperando resultados histológicos significativos <sup>(22,30,42)</sup>.

### **CONCLUSIONES**

Con las limitaciones de este estudio y con base en los resultados obtenidos, se puede concluir que no se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudio, por lo que este modelo debe ser ajustado para obtener resultados mas visibles.

Se observo una ligera disminución de células inflamatorias posterior a la aplicación de la crioterapia, por lo que se sigue recomendando su uso por ser una opción simple, económica y no tóxica.

### **RECOMENDACIONES**

Se recomienda llevar a cabo mayores investigaciones con la metodología planteada en este estudio tomando en cuenta los siguientes puntos:

1. Se recomienda reproducir este modelo de estudio con mayor cantidad de muestras, de este modo los resultados esperados tendrán mayor significancia.
2. Se recomienda permitir actuar mayor tiempo los LPS para crear una reacción inflamatoria más acentuada.
3. Se recomienda inyectar mayor volumen/mg de LPS para crear una reacción inflamatoria mas acentuada.
4. Se recomienda estudiar este modelo a distintos tiempos para evaluar la respuesta tisular de la crioterapia.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Canalda C, Brau E. Endodoncia. Técnicas Clínicas y Bases Biológicas. 2014. 220 p.
2. Urla J, Interiano M. Histología: Pulpa dental. 2002;1–7.
3. Morotomi T, Washio A, Kitamura C. Current and future options for dental pulp therapy. Jpn Dent Sci Rev [Internet]. 2019;55(1):5–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2018.09.001>
4. Gomez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. 451 p.
5. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endod Top. 2005;10(1):77–102.
6. Gundogdu EC, Arslan H, Prof A. Effects of Various Cryotherapy Applications on Postoperative Pain in Molar Teeth with Symptomatic Apical Periodontitis: A Preliminary Randomized Prospective Clinical Trial. J Endod. 2018;44(3):349–54.
7. Ardilla, María; Buritica, Catalina; Vallejo M. SOLUCIONES IRRIGADORAS EN ENDODONCIA DEL CONDUCTO RADICULAR: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA. 2016;
8. Newman M, Takei H. Anatomía del periodonto. Vol. 11, Periodontología clínica e implantológica de Carranza. 2014. 11–58 p.
9. López J. Periodonto normal. Univ San Carlos, Guatemala. 2013;1–20.
10. Termeie D. Periodontal Review: Q & A, a Study Guide. Encyclopedia of Public Health. 2013. 36–36 p.
11. Lindhe, Jan; Lang NP. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Vol. 53,

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- WILEY Blackwell. 2008. 1689–1699 p.
12. Collazo MEF, Dadonim Vila Morales C, Soto AR, González DLM, Clemente NGP. Lesiones periapicales agudas en pacientes adultos. *Rev Cubana Estomatol.* 2012;49(2):107–16.
  13. García-Rubio A, Bujaldón-Daza AL, Rodríguez-Archilla A. Lesiones periapicales: diagnóstico y tratamiento. *Av Odontoestomatol.* 2015;31(1):31–42.
  14. Fuentes R, Álvarez G, Arias A, Borie-Echevarría E, Dias F. Periodontitis Apical: Caracterización Histológica y Morfométrica de Quistes Radiculares y Granulomas Periapicales. *Int J Morphol.* 2018;36(4):1268–74.
  15. Qian W, Ma T, Ye M, Li Z, Liu Y, Hao P. Microbiota in the apical root canal system of tooth with apical periodontitis. *BMC Genomics.* 2019;20(Suppl 2).
  16. Fernandez F. *Inflamación.* 2000;6(2):103.
  17. García de lorenzo y mateos A, López martínez J, Ssánchez castilla M. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. *Med Intensiva.* 2013;24(8):353–60.
  18. Alonso G. *Inflamación. Datos.* 2010;1–3.
  19. Bordées Gonzalez R, Martínez Beltran M, García Olivares E, Guisada Barrilao R. *El Proceso Inflamatorio.* 2010;9–12.
  20. Belitsky RB, Odam SJ, Hublely-Kozey C. Evaluation of the effectiveness of wet ice, dry ice, and cryogen packs in reducing skin temperature. *Phys Ther.* 1987;67(7):1080–4.
  21. Hubbard TJ, Denegar CR. Does cryotherapy improve outcomes with soft tissue injury? *J Athl Train.* 2004;39(3):278–9.
  22. Vera J, Ochoa-rivera J, Vazquez-carca M. Effect of Intracanal Cryotherapy on

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Reducing Root Surface Temperature. 2015;41(11):1884–7.
23. Bleakley C, McDonough S, MacAuley D. The Use of Ice in the Treatment of Acute Soft-Tissue Injury: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Am J Sports Med.* 2004;32(1):251–61.
  24. Diamond S, Freitag FG. Cold as an adjunctive therapy for headache. *Postgrad Med.* 1986;79(1):305–9.
  25. Belli E, Rendine G, Mazzone N. Cold therapy in maxillofacial surgery. *J Craniofac Surg.* 2009;20(3):878–80.
  26. Forouzanfar T, Sabelis A, Ausems S, Baart JA, van der Waal I. Effect of ice compression on pain after mandibular third molar surgery: a single-blind, randomized controlled trial. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(9):824–30.
  27. Al-Nahlawi T, Hatab TA, Alrazak MA, Al-Abdullah A. Effect of intracanal cryotherapy and negative irrigation technique on postendodontic pain. *J Contemp Dent Pract.* 2016;17(12):990–6.
  28. Modabber A, Rana M, Ghassemi A, Gerressen M, Gellrich N, Holze F, et al. Three-dimensional evaluation of postoperative swelling after third molar surgery using 2 different cooling therapy methods: A randomized observer-blind prospective study. *J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2011;69(8):2092–8. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=2011407936>
  29. Filho J, Silva E, Camargo I, Gouveia F. The influence of cryotherapy on reduction of swelling, pain and trismus after third-molar extraction. *Clin Pract.* 2005;136(June):774–8.
  30. Multicenter PAR, Vera J, Ochoa J, Romero M, Vazquez-carca M, Ramos-gregorio CO, et al. Intracanal Cryotherapy Reduces Postoperative Pain in Teeth with Symptomatic Apical Clinical Trial. 2018;44(1).

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

31. Keskin C, Özdemir Ö, Uzun İ, Güler B. Effect of intracanal cryotherapy on pain after single-visit root canal treatment. *Aust Endod J.* 2017;43(2):85–90.
32. Hockett JL, Dommisch JK, Johnson JD, Cohenca N. Antimicrobial Efficacy of Two Irrigation Techniques in Tapered and Nontapered Canal Preparations: An In Vitro Study. *J Endod.* 2008;34(11):1374–7.
33. Gutiérrez Espinoza HJ, Lavado Bustamante IP, Méndez Pérez SJ. Systematic review of the analgesic effect of cryotherapy in the management of musculoskeletal pain. *Rev la Soc Esp del Dolor.* 2010;17(5):242–52.
34. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: A quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. *J Endod.* 1988;14(5):229–35.
35. Torneck CD. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part II. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1967;24(5):674–83.
36. Holland R, De Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod.* 1999;25(3):161–6.
37. Makkes PC, Thoden van Velzen SK, Wesselink PR, de Greeve PCM. Polyethylene tubes as a model for the root canal. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1977;44(2):293–300.
38. Saghiri MA, Amanat D. Subcutaneous Connective Tissue Reactions to Various Endodontic Biomaterials: An Animal Study. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect [Internet].* 2013;7(1):15–21. Available from: <http://dentistry.tbzmed.ac.ir/joddd>
39. Moretton TR, Brown CE, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. *J Biomed Mater Res.* 2000;52(3):528–33.

## ***REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

40. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of Connective Tissue to Mineral Trioxide. *J Endod.* 2004;30(2).
41. Radulovic K, Mak'Anyengo R, Kaya B, Steinert A, Niess JH. Injections of Lipopolysaccharide into Mice to Mimic Entrance of Microbial-derived Products After Intestinal Barrier Breach. *J Vis Exp.* 2018;(135):1–9.
42. Multicenter PAR, Vera J, Ochoa J, Romero M, Vazquez-carca M, Ramos-gregorio CO, et al. Intracanal Cryotherapy Reduces Postoperative Pain in Teeth with Symptomatic Apical Clinical Trial. 2018;44(1).