

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**IMPACTO DE LA CRIOTERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN**  
**SUBCUTÁNEA: IN SITU**

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

**PRESENTA: C.D. LILIANA LISSETH HERNANDEZ CARDENAS**

**PRESIDENTE**

**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL**

**DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO GUTIERREZ**

**SINODAL**

**MC JORGE VERA ROJAS**

**SINODAL**

**MC EDGAR RAMIRO MÉNDEZ SÁNCHEZ**

**TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO**

**AGOSTO 2021**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA**  
**ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. agosto de 2021

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **IMPACTO DE LA CRIOTERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUBCUTÁNEA: IN SITU.**

Propuesto por el **C.D. LILIANA LISSETH HERNANDEZ CARDENAS**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

**ATENTAMENTE**  
  
**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**  
PRESIDENTE

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA**  
**ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. agosto de 2021

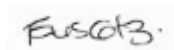
**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **IMPACTO DE LA CRIOTERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUBCUTÁNEA: IN SITU**

Propuesto por el **C.D. LILIANA LISSETH HERNANDEZ CARDENAS**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

**ATENTAMENTE**



**DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO GUTIERREZ**

**SINODAL**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA**  
**ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. agosto de 2021

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **IMPACTO DE LA CRIOTERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUBCUTÁNEA: IN SITU**

Propuesto por el **C.D. LILIANA LISSETH HERNANDEZ CARDENAS**, 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**



**MC JORGE VERA ROJAS**

**SINODAL**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA**  
**ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. agosto de 2021

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **IMPACTO DE LA CRIOTERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUBCUTÁNEA: IN SITU**

Propuesto por el **C.D. LILIANA LISSETH HERNANDEZ CARDENAS**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

ATENTAMENTE  
  
MC EDGAR RAMIRO MÉNDEZ SÁNCHEZ  
SINODAL

Ccp.- Archivo.

# IMPACTO DE LA CRIOTERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN SUBCUTÁNEA: IN SITU

PRESENTA

---

C.D. LILIANA LISSETH HERNANDEZ CARDENAS

**PRESIDENTE**



---

Dra. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

**SINODALES**



---

DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO  
GUTIÉRREZ



---

MC JORGE VERA ROJAS



MC EDGAR RAMIRO MÉNDEZ SÁNCHEZ

---

MC EDGAR RAMIRO MÉNDEZ SÁNCHEZ

Tijuana, Baja California, agosto de 2021.

## AGRADECIMIENTOS

Al concluir esta etapa maravillosa en mi vida quiero extender un profundo agradecimiento a quienes hicieron posible este sueño, aquellos que en todo momento acompañaron y guiaron mi camino.

Agradezco infinitamente a la **Dr. Ana Gabriela Carrillo Vázquez**, Coordinadora del programa de especialidad en Endodoncia, por haberme brindado la oportunidad de pertenecer a su posgrado y permitirme crecer como profesional, por el apoyo brindado a lo largo de este proyecto y por que en todo momento me brindo su conocimiento desinteresadamente.

También quiero extender mi gratitud a la **Dra. Eva Viviana Sarmiento Gutiérrez** codirectora del proyecto por su valiosa orientación, tiempo, entusiasmo, consejos y ayuda aportados a lo largo del proyecto para que este fuera posible.

Me gustaría también agradecer **MC Edgar Ramiro Méndez Sánchez** por su ayuda en la realización del análisis histológico y por su supervisión dentro del proyecto, quien en todo momento me dio sus consejos y constructivas recomendaciones.

Hago mención también para el **MC Jorge Vera Rojas**, porque a través de la distancia siempre mostro su apoyo incondicional e interés en el proyecto.

Por último, quiero agradecer a todos mis compañeros quien de alguna manera siempre me dieron su apoyo, amistad e incluso hasta su casa. Sin duda fue muy placentero compartir esta etapa de mi vida con ustedes.

## AGRADECIMIENTOS

En especial, quiero mencionar a **mis padres Javier y Claudia**, por ser los principales promotores de mis sueños, por darme su apoyo emocional y económico. Por preocuparse por mi e incluso sacrificarse para que esto fuera posible.

A mis hermanos, **Ivette, Javier y Christian**, por ser parte importante en mi vida y pieza fundamental para llenar mi vida de alegrías con sus palabras de aliento en los momentos más difíciles.

Gracias a mi compañero de vida **Jaime** por entenderme y guiarme en todo momento. Por enseñarme a creer en mi y confiar que puedo lograr cualquier cosa que me proponga. Gracias por ser esa persona incondicional en mi vida y ser una fuente de inspiración a ser mejor cada día. Jamás podre terminar de agradecerte por el amor, ayuda y la paciencia que me brindaste a lo largo de este trayecto.

Agradezco a **Dios** por permitirme llegar hasta este momento y poder disfrutar del proceso. A mi **Familia**, que no dudo nunca en darme sus palabras de ánimo y apoyo cuando mas las necesitaba.

A **Vicky y adri** por siempre apoyarnos dentro de la escuela.

Muchas gracias a todos que se que esto sin ustedes no hubiera sido posible.

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Gracias a la **Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Odontología, Tijuana** por permitirme sus instalaciones para poder hacer posible la realización del proyecto y convertirme en ser un profesional en lo que tanto me apasiona.

A **Conacyt** por la beca otorgada con el No. CVU 1002655.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	x
I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCIÓN .....	2
2.1. ENDODONCIA .....	2
2.2. BIOLOGÍA DE LA PULPA Y DE LOS TEJIDOS PERIAPICALES.....	2
2.2.1. Desarrollo de la pulpa dental .....	2
2.2.2. Desarrollo de los tejidos periapicales.....	3
2.2.2.1. Formación del cemento:.....	3
2.2.2.2. Formación del hueso alveolar .....	3
2.2.2.3. Formación del ligamento periodontal:.....	3
2.3. COMPLEJO DENTINO-PULPAR.....	4
2.3.1 Histología de la dentina .....	4
2.3.1.1. Composición:.....	4
2.3.1.2. Estructura: .....	5
2.3.2. Histología de la pulpa .....	5
2.3.2.1. Morfología: .....	5
2.3.2.2. Composición:.....	6
2.3.2.3. Estructura: .....	6
2.4. DIAGNOSTICO.....	7
2.4.1. Diagnostico pulpar.....	7
2.4.1.1. Pulpa normal.....	7
2.4.1.2. Pulpitis reversible.....	8

2.4.1.3. Pulpitis irreversible sintomática .....	8
2.4.1.4. Necrosis pulpar .....	9
2.4.1.5. Previamente tratado .....	9
2.4.1.6. Previamente iniciado.....	10
2.4.2. Diagnóstico periapical.....	10
2.4.2.1. Tejidos periapicales sanos:.....	10
2.4.2.2. Periodontitis apical sintomática:.....	10
2.4.2.3. Periodontitis apical asintomática:.....	11
2.4.2.4. Absceso apical agudo:.....	11
2.4.2.5. Absceso periapical crónico:.....	11
2.4.2.6. Osteítis condensante: .....	12
2.5. FISIOPATOLOGÍA PULPAR.....	12
2.5.1. Vías de invasión bacteriana a la pulpa: .....	13
2.5.2. Reacción pulpar frente a caries .....	13
2.6. BIOPATOLOGÍA PERIAPICAL.....	15
2.7. BIOFILM BACTERIANO .....	16
2.8. PROCESO INFLAMATORIO.....	17
2.9. TRATAMIENTO DE CONDUCTOS.....	19
2.9.1. Triada endodóntica .....	19
2.10. DOLOR.....	20
2.10.1. Control del dolor .....	20
2.11. CRIOTERAPIA .....	21
2.11.1. Crioterapia en endodoncia.....	22
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	25
IV. JUSTIFICACIÓN.....	26

<b>V. HIPÓTESIS .....</b>	<b>27</b>
<b>5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....</b>	<b>27</b>
<b>5.2. HIPÓTESIS NULA (H0).....</b>	<b>27</b>
<b>5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1).....</b>	<b>27</b>
<b>VI. OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>6.1. OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>28</b>
<b>6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>28</b>
<b>VII. VARIABLES.....</b>	<b>29</b>
<b>7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE.....</b>	<b>29</b>
<b>7.2. VARIABLE DEPENDIENTE .....</b>	<b>29</b>
<b>7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES.....</b>	<b>29</b>
<b>VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
<b>8.1. TIPO DE ESTUDIO.....</b>	<b>30</b>
<b>8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO .....</b>	<b>30</b>
<b>8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL .....</b>	<b>30</b>
<b>8.4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>31</b>
<b>FASE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>31</b>
<b>FASE EXPERIMENTAL CON CRIOTERAPIA.....</b>	<b>31</b>
<b>PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS: .....</b>	<b>31</b>
.....	<b>32</b>
<b>DIVISIÓN DE LOS GRUPOS: .....</b>	<b>33</b>
<b>PROCEDIMIENTO: .....</b>	<b>34</b>
<b>RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS: .....</b>	<b>36</b>
<b>PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....</b>	<b>37</b>
<b>Fijación .....</b>	<b>37</b>

Análisis macroscópico .....	37
Deshidratación e imbibición en parafina .....	38
Inclusión en parafina .....	39
Corte y montaje de portaobjetos .....	39
Tinción .....	40
8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	40
IX. RESULTADOS.....	41
X. DISCUSIÓN .....	53
XI. CONCLUSIONES .....	56
XII. RECOMENDACIONES .....	57
XIII. BIBLIOGRAFÍA .....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparación de las soluciones anestésicas.....	32
Figura 2 A. Asepsia y antisepsia. B. Depilación de la zona dorsal.....	32
Figura 3. Colocación de LPS en tejido subcutáneo.....	34
Figura 4. Desarrollo del proceso inflamatorio.....	35
Figura 5. A. Implantación de catéter calibre 14G. B. Conexión del equipo de venoclisis e inicio de protocolo de irrigación.....	36
Figura 6. A. Colocación de sobredosis de pentobarbital sódico. B. Incisión realizada con hoja de bisturí. C. Toma de muestra. ....	36
Figura 7. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R2G2 se puede observar la presencia neutrófilos, linfocitos y células cebadas, así como una inflamación aguda de grado leve. ....	42
Figura 8. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R3G2 se puede observar la presencia neutrófilos, linfocitos y células cebadas, así como una inflamación aguda de grado leve. ....	43
Figura 9. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R5G2 se puede observar mayor presencia neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células cebadas, inflamación mixta de grado moderada.....	43
Figura 10. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R6G2 se puede observar mayor presencia neutrófilos, linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y cebadas, inflamación crónica de grado moderada. ....	44
Figura 11. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R9G2 se puede observar presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación mixta de grado leve.....	44
Figura 12. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R1G3 se puede observar presencia de linfocitos y macrófagos, con inflamación aguda de grado leve. ....	45

Figura 13.. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R5G3 se puede observar presencia de neutrófilos, linfocitos y células cebadas, con inflamación aguda de grado moderada y presencia de hemorragia..... 45

Figura 14. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R7G3 se puede observar presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación mixta de grado moderada. .... 46

Figura 15. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R8G4 de tejido sano donde se puede observar ausencia de inflamación. .... 46

Figura 16. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R2G1 se puede observar mayor presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación aguda de grado moderada. .... 47

Figura 17. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R3G1 se puede observar presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación aguda de grado leve. .... 47

Figura 18. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R5G1 se puede observar mayor presencia de neutrófilos, linfocitos y eosinófilos con inflamación aguda de grado moderada y con abundante hemorragia..... 48

Figura 19. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R6G1 se puede observar mayor presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación aguda de grado severo y hemorragia. .... 48

Figura 20. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R8G1 se puede observar escasa presencia de neutrófilos, con inflamación aguda de grado leve. .... 49

Figura 21. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R9G1 se puede observar poca presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación mixta de grado leve..... 49

Figura 22. Representación gráfica según el tipo de inflamación presente en los diferentes grupos. .... 50

Figura 23. Representación gráfica según el grado de inflamación presente en los diferentes grupos ..... 50

Figura 24. Numero de células presentes en el grupo de crioterapia a 1 minuto. .... 51

Figura 25. Numero de células presentes en el grupo de crioterapia a 3 minutos..... 51

Figura 26. Numero de células presentes en el grupo de crioterapia a 5 minutos..... 52

Figura 27. Numero de células presentes en los diferentes grupos ..... 52

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>AAE</b>	Asociación Americana de Endodoncia
<b>CGRP</b>	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
<b>E. coli</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>eDNA</b>	Ácido desoxirribonucleico extracelular
<b>LPS</b>	Lipopolisacárido
<b>LTA</b>	Ácido lipoteicoico
<b>PMAP</b>	Patrones asociados a patógenos
<b>RRP</b>	Receptores de reconocimiento del patrón
<b>ROM</b>	Mejoramiento del rango de movimiento
<b>SP</b>	Sustancia P
<b>TLR</b>	Receptores tipo Toll

## I. RESUMEN

**OBJETIVO:** Evaluar el uso de crioterapia como alternativa para la eliminación o reducción de células inflamatorias y así determinar su eficacia en la disminución del dolor. **METODOLOGÍA:** Para este estudio fue necesario la utilización de 9 ratas entre 200-300gr las cuales fueron anestesiadas y posteriormente depiladas para provocar un proceso inflamatorio subcutáneo a través de un lipopolisacárido de *E. coli*. Fueron divididas en grupos de 3 para asignar un tiempo de crioterapia (1,3 y 5 minutos), cada muestra fue dividida en 4 partes. **RESULTADOS:** *Grupo control positivo (LPS)*, obtuvo inflamación aguda 44.44%, inflamación mixta 44.44% e inflamación crónica 11.11%. Todas las muestras fueron observadas con un grado de inflamación de leve a moderado con presencia de neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células cebadas. *Grupo control positivo (catéter)*, 77.77% obtuvieron una inflamación aguda, inflamación mixta 11.11% e inflamación crónica 11.11%; de acuerdo con el grado de inflamación se observó un patrón de leve a moderado con mayor predominio moderado con presencia de neutrófilos linfocitos y células cebadas. *Grupo control negativo*, se observó ausencia de inflamación. *Grupo (G1)*, presencia de células inflamatorias como neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células cebadas con un patrón de inflamación aguda en un 66.66% y un 33.33% en inflamación mixta con grado de inflamación moderado en su mayoría. *Grupo (G2)*, presencia de neutrófilos, linfocitos, macrófagos, eosinófilos y células cebadas en gran cantidad con un 100% de inflamación aguda de grado moderado/severo. *Grupo (G3)*, menor número de células como neutrófilos, linfocitos y células cebadas en comparación al grupo control positivo; con un 100% de inflamación aguda y un 100% de inflamación grado leve. **CONCLUSIÓN:** El tiempo y la temperatura del irrigante juegan un papel importante en la disminución de las células inflamatorias presentes en los hallazgos histológicos.

## II. INTRODUCCIÓN

### 2.1. ENDODONCIA

La endodoncia es una rama de la odontología se ocupa de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental humana y los tejidos perirradiculares. Su estudio y práctica abarcan las ciencias básicas y clínicas, incluida la biología de la pulpa normal y la etiología, diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades y lesiones de la pulpa y afecciones perirradiculares asociadas (1).

### 2.2. BIOLOGÍA DE LA PULPA Y DE LOS TEJIDOS PERIAPICALES

#### *2.2.1. Desarrollo de la pulpa dental*

Los estudios embriológicos han demostrado que la pulpa deriva de la cresta neural cefálica. Las células de la cresta neural proceden del ectodermo a lo largo de los márgenes laterales de la placa neural, y experimentan una migración extensa. Las que descienden por los lados de la cabeza hacia el maxilar y la mandíbula contribuyen a la formación de los gérmenes dentales. La papila dental, de la que nace la pulpa madura, se desarrolla conforme las células ectomesenquimatosas proliferan y se condensan junto a la lámina dental, en los sitios donde se desarrollarán los dientes (2).

### **2.2.2. Desarrollo de los tejidos periapicales**

#### 2.2.2.1. Formación del cemento:

La dentina radicular se forma progresivamente en sentido corono-apical, con la peculiaridad de que se deposita sobre la vaina epitelial radicular de Hertwig en lugar de sobre la capa de ameloblastos, quedando posteriormente recubierta por cemento (3).

La contracción que se produce al mineralizarse la matriz de la dentina origina la fragmentación de la vaina epitelial. A partir de las células mesenquimatosas indiferenciadas existentes en el saco dentario, se diferencian fibroblastos y cementoblastos que penetran en los huecos que existen entre los fragmentos de la vaina epitelial, formando la sustancia fundamental del pre-cemento (3).

#### 2.2.2.2. Formación del hueso alveolar:

A partir de las células del ectomesénquima del saco o folículo dental se diferencian los osteoblastos que formarán el tejido óseo del alvéolo. Este hueso está en continua aposición y reabsorción, debido a las modificaciones que adopta el germen dentario en su desarrollo y crecimiento (3).

#### 2.2.2.3. Formación del ligamento periodontal:

A partir de las células mesenquimatosas del saco o folículo dental empieza a diferenciarse un tejido conectivo muy rico en fibras colágenas y escaso en células y vasos sanguíneos. Las fibras forman un tejido conectivo denso y se disponen irregularmente constituyendo la membrana periodóntica, en la que se observan grupos de fibras ancladas en el hueso (fibras de Sharpey), otras en el cemento (fibras cementosas) y unas

intermedias (plexo intermedio). Cuando, en un estadio maduro de la formación, las fibras se organizan en haces, reciben el nombre de ligamento periodontal (3).

### **2.3. COMPLEJO DENTINO-PULPAR**

La pulpa y la dentina son dos tejidos de características histológicas distintas, pero debido a su mismo origen embriológico e implicaciones estructurales se consideran una unidad funcional. (3).

#### ***2.3.1 Histología de la dentina***

La dentina es un tejido mineralizado del diente, responsable del color del diente, rodeado por el esmalte en la zona de la corona y por el cemento en la zona radicular, que delimita una cavidad —la cámara pulpar y los conductos radiculares— donde se encuentra el tejido pulpar. La dentina tiene un espesor variable que depende del diente y de la localización; oscila entre 1 y 3 mm y varía durante toda la vida del individuo debido a su formación continua por condiciones fisiológicas y patológicas. Su color, blanco amarillento, depende del grado de mineralización, de la edad, del estado del tejido pulpar y de determinados pigmentos. Presenta menos translucidez, dureza y radiopacidad que el esmalte, y es elástica y permeable (3).

##### **2.3.1.1. Composición:**

La dentina está compuesta por un 70% de materia inorgánica (principales cristales de hidroxiapatita), un 18% de materia orgánica (principalmente fibras de colágena) y un 12%

de agua. La materia inorgánica está constituida preferentemente por cristales de hidroxiapatita de menor tamaño que los del esmalte, mientras que la materia orgánica está compuesta de colágeno tipo I (90% de la matriz), un componente menor de colágeno tipo V y de proteínas similares a las del hueso (3).

### 2.3.1.2. Estructura:

La dentina está constituida por una serie de túbulos dentinarios que la atraviesan y por una matriz o dentina intertubular: Los túbulos dentinarios son estructuras cilíndricas, huecas, que se extienden desde la pulpa hasta el límite amelodentinario, delimitadas por la dentina peritubular, muy mineralizada, que tiene un espesor variable de 400 nm a la altura de la dentina circumpulpar y de 750 nm a la del manto (3).

### **2.3.2. Histología de la pulpa**

La pulpa es un tejido conectivo laxo que está encerrado en el interior de la cámara pulpar y de los conductos radiculares, lo que condiciona que su volumen vaya disminuyendo en el transcurso de los años por la continua formación de dentina (3).

### 2.3.2.1. Morfología:

La pulpa reproduce generalmente la morfología externa del diente, y en ella pueden distinguirse varias áreas anatómicas de gran importancia en el tratamiento endodóntico (3).

2.3.2.2. Composición:

La pulpa está constituida por un 25% de materia orgánica y un 75% de agua. La materia orgánica está compuesta por células (dentinoblastos, fibroblastos, fibrocitos, macrófagos o histiocitos, células dendríticas, linfocitos, células mesenquimatosas indiferenciadas y mastocitos), fibras (colágenas, reticulares y de oxitalano) y sustancia fundamental (glucosaminoglicanos, proteoglucanos, colágeno, elastina, interleucina-1, fibronectina) (3).

2.3.2.3. Estructura:

En el tejido pulpar diferenciado se distinguen 4 áreas desde la dentina hacia el centro de la pulpa:

- Zona de dentinoblastos: Zona más superficial de la pulpa, constituida por una capa de células (dentinoblastos) que se disponen formando una empalizada, en íntima relación con la predentina, matriz de la dentina sin mineralizar (3).
- Zona subdentinoblástica, acelular o capa basal de Weil: Zona por debajo de la capa de dentinoblastos, de unos 40 mm de espesor, que se observa en la pulpa de la cámara pulpar y no existe en los conductos radiculares. En ella se distinguen el plexo nervioso de Raschkow, el plexo capilar subdentinoblástico y fibroblastos (3).
- Zona rica en células: En esta zona se encuentran numerosas células ectomesenquimatosas y fibroblastos que producen las fibras de Von Korff (3).

- Zona central de la pulpa o pulpa propiamente dicha. Corresponde a la zona central de la pulpa y está constituida por un tejido laxo en el que se encuentran, fundamentalmente, células ectomesenquimatosas (3).

## **2.4. DIAGNOSTICO**

El diagnóstico endodóntico se define como el proceso para identificar una condición pulpar y periapical, mediante la comparación de los signos y síntomas propios de cada patología (4).

De acuerdo con la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) los signos y síntomas deben de estar acompañados de examen y procedimientos de diagnóstico. El diagnóstico no puede hacerse a partir de una sola pieza de información aislada. El clínico debe recopilar sistemáticamente toda la información necesaria para hacer un diagnóstico "probable". Al tomar el historial médico y dental, el clínico ya debe estar formulando en su mente un diagnóstico preliminar pero lógico, especialmente si hay una queja de dolor principal. Los exámenes clínicos y radiográficos en combinación con una evaluación periodontal exhaustiva y pruebas clínicas (pulpa y pruebas periapicales) se utilizan para confirmar el diagnóstico preliminar (5).

### ***2.4.1. Diagnostico pulpar***

#### **2.4.1.1. Pulpa normal**

Características clínicas:

- Libre de síntomas y responde positivamente dentro de parámetros normales a las pruebas de sensibilidad.

Características radiográficas:

- Sin alteración periapical.

#### 2.4.1.2. Pulpitis reversible

Características clínicas:

- Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos en donde la pulpa vital inflamada retornara a la normalidad.
- No existen antecedentes de dolor espontáneo.
- Dolor transitorio de leve a moderado provocado por estímulos: frio, calor, dulce.
- Pruebas de sensibilidad positivas, térmicas y eléctricas.
- Obturaciones fracturadas o desadaptadas o caries.

Características radiográficas:

- Sin alteración periapical.

#### 2.4.1.3. Pulpitis irreversible sintomática

Características clínicas:

- Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse.
- Dolor a los cambios térmicos.
- Dolor referido, espontaneo de moderado a severo.

- Dolor que disminuye con el frío y aumenta con calor.
- Pruebas de sensibilidad positivas térmicas y eléctricas.
- El dolor permanece después de retirado el estímulo.
- Dolor a la percusión.
- Puede presentar caries.

Características radiográficas:

- Posible engrosamiento del espacio del ligamento Periodontal.
- Zona Radiolúcida de la corona compatible con caries.
- Imagen Radiopaca compatible con restauraciones profundas.
- Pulpitis irreversible sintomática.

#### 2.4.1.4. Necrosis pulpar

Características clínicas:

- Diagnóstico clínico que indica muerte pulpar.
- Usualmente no responde a las pruebas sensibilidad.
- Cambio de color coronal que puede ser de matiz pardo, verdoso o gris.
- Presenta pérdida de la translucidez y la opacidad se extiende a la corona.

Características radiográficas:

- Ligero ensanchamiento del espacio del espacio del ligamento Periodontal.

#### 2.4.1.5. Previamente tratado

Características clínicas:

- Diagnóstico clínico indicando que el diente ha sido endodónticamente tratado.

#### 2.4.1.6. Previamente iniciado

Características clínicas:

- Diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido previamente iniciado como una pulpectomía o pulpotomía.

#### **2.4.2. Diagnóstico periapical**

##### 2.4.2.1. Tejidos periapicales sanos:

Características clínicas:

- Periodonto perirradicular sano.
- Negativo a palpación y percusión.

Características radiográficas:

- No existen cambios en los tejidos de soporte.

##### 2.4.2.2. Periodontitis apical sintomática:

Características clínicas:

- Dolor a la percusión y palpación.
- Sensación de presión en la zona apical del diente.

Características radiográficas:

- Se puede o no observar cambios en los tejidos de soporte circundante.

2.4.2.3. Periodontitis apical asintomática:

Características clínicas:

- Generalmente asintomática o asociada a molestia leve.
- Respuesta positiva a percusión.

Características radiográficas:

- Zona radiolúcida apical.

2.4.2.4. Absceso apical agudo:

Características clínicas:

- Proceso infeccioso por una necrosis pulpar.
- De comienzo rápido.
- Dolor espontáneo, dolor a la presión, percusión y palpación.
- Exudado purulento.
- Inflamación intra o extraoral.

Características radiográficas:

- Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal o una zona de reabsorción ósea apical.

2.4.2.5. Absceso periapical crónico:

Características clínicas:

- Proceso infeccioso por una necrosis pulpar caracterizado por un comienzo gradual.

- Ligera sensibilidad.
- Presencia de fistula.
- Asintomática.
- Pruebas de sensibilidad negativas.

Características radiográficas:

- Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal o una zona de reabsorción ósea apical.

2.4.2.6. Osteítis condensante:

Características clínicas:

- Proceso inflamatorio crónico de baja intensidad.
- Puede o no responder a pruebas de sensibilidad.
- Puede o no ser sensible a palpación y/ o percusión.

Características radiográficas:

- Presencia de una zona radiopaca apical difusa.

## **2.5. FISIOPATOLOGÍA PULPAR**

El complejo pulpo-dentinario es un concepto importante para entender la pato-biología de la dentina y de la pulpa. Durante el desarrollo, las células pulpares producen dentina, nervios y vasos sanguíneos, aunque la dentina y la pulpa tienen diferentes estructuras y composiciones, una vez formadas reaccionan frente al estímulo como una unidad

funcional. Estas reacciones son llevadas a cabo con cambios en los fibroblastos, nervios, vasos sanguíneos, odontoblastos, leucocitos y el sistema inmune (6).

### **2.5.1. Vías de invasión bacteriana a la pulpa:**

Existen varias vías por las cuales los microorganismos pueden alcanzar la pulpa dental.

- Invasión directa a través de la dentina como por caries, fractura coronaria o radicular, exposición durante la preparación cavitaria, atrición, abrasión, erosión o fisuras en la corona (2).
- Invasión a través de vasos sanguíneos o linfáticos asociados a enfermedad periodontal, conductos accesorios en furca, infecciones gingivales o curetaje de los dientes (2).
- Una posibilidad es que el diente, aunque clínicamente parezca intacto, tenga microfisuras en los tejidos duros que permitan la entrada de bacterias. La infección pulpar se puede producir, así mismo, a través de los túbulos dentinarios expuestos en la superficie radicular cervical por brechas en el revestimiento de cemento (2).
- Invasión a través de la sangre, como durante enfermedades infecciosas o bacteriemias transitorias, mediante un proceso llamado anacoresis (2).

### **2.5.2. Reacción pulpar frente a caries**

La caries dental es una infección localizada, destructiva y progresiva de la dentina; si se deja sin controlar, puede ocasionar necrosis pulpar y la potencial pérdida del diente. Tanto los productos como los subproductos bacterianos procedentes de la disolución de

los constituyentes orgánicos e inorgánicos median los efectos de la caries dental sobre la pulpa. Tres reacciones básicas tienden a proteger a la pulpa frente a la caries: a) un descenso en la permeabilidad dentinaria, b) la formación de dentina terciaria y c) las reacciones inflamatorias e inmunológicas. Estas respuestas se producen de manera concomitante, y su magnitud depende en gran medida de la naturaleza agresiva de la lesión en curso (2).

La respuesta inflamatoria a la caries se caracteriza por el acúmulo focal de células inflamatorias crónicas. Este proceso está probablemente mediado, en un estadio inicial, por los odontoblastos y, posteriormente, por las células dendríticas; estas últimas son responsables de la presentación del antígeno y de la estimulación de los linfocitos T. En la pulpa no inflamada, estas células dendríticas se distribuyen de forma diseminada a lo largo de la misma (6).

La estimulación externa de la dentina provoca la liberación de neuropéptidos proinflamatorios desde los nervios aferentes pulpares. Se liberan sustancia P (SP) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, calcitonin gene-related peptide), los cuales producen respuestas vasculares tales como la vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular, lo que provoca un proceso inflamatorio con edema, calor y dolor. Esto se traduce en un aumento neto de la presión tisular que puede progresar a necrosis en circunstancias extremas y persistentes. El acúmulo de células inflamatorias comienza a ser marcado cuando la lesión cariosa se aproxima a la pulpa y la infección alcanza la dentina terciaria (6).

## 2.6. BIOPATOLOGÍA PERIAPICAL

La etiología, patogenia y anatomía patológica de la periodontitis apical son muy similares a las de la periodontitis marginal. Ambas enfermedades se deben a la infección bacteriana e implican cambios patológicos en el hueso alveolar, el ligamento periodontal y el cemento. La periodontitis apical se puede deber a factores tanto exógenos como endógenos. Entre los factores exógenos se encuentran los microbios y sus toxinas, así como los subproductos metabólicos nocivos, agentes químicos, irritación mecánica, cuerpos extraños y traumatismos. Los factores endógenos son los productos metabólicos del huésped, como los cristales de urato y colesterol, así como las citocinas u otros mediadores de la inflamación que activan los osteoclastos. Esos irritantes pueden activar las vías no antigénicas o antigénicas para inducir respuestas inmunoinflamatorias innatas y adaptativas, respectivamente (2).

En el sistema de conductos radiculares, la infección del tejido de la pulpa causada por la caries o por otras vías es la principal causa de la periodontitis. En el estudio clásico de Kakehashi et al. se demostró que se desarrollaban necrosis de la pulpa e inflamación perirradicular en ratas normales cuando las pulpas de los dientes se exponían a los microorganismos bucales. No obstante, en las ratas de laboratorio mantenidas sin gérmenes no se producía necrosis de la pulpa o inflamación perirradicular incluso cuando las pulpas de los dientes se expusieron al entorno oral y se rellenaron con restos de comida estériles. En el ser humano se produce una respuesta similar. Utilizando cultivos bacterianos se ha demostrado que los dientes del ser humano que sufren traumatismos con las coronas intactas y pulpas necróticas sin contaminación bacteriana no mostraban

indicios radiográficos de destrucción en el hueso apical circundante. Por el contrario, se observaban indicios de destrucción ósea perirradicular si se aislaban bacterias en los dientes con traumatismos, coronas intactas y pulpas (2).

## **2.7. BIOFILM BACTERIANO**

La etiología más común de las patologías pulpares y perirradiculares son los microorganismos o la microflora. La infección en la cavidad oral es causada por varios organismos de diferentes especies que se encuentran en la boca humana. Estas bacterias orales tienen la capacidad de formar biopelículas en distintas superficies que van desde tejidos duros a blandos (7).

Una biopelícula es una estructura altamente organizada que consta de células bacterianas encerradas en una matriz polimérica extracelular autoproducida unida a una superficie. Las biopelículas también se pueden considerar como una capa de condensación de microbiota o una comunidad derivada de microbios que consta de células que están unidas de manera irreversible a un sustrato o interfaz o entre sí, e incrustadas en una matriz de polisacáridos extracelulares además del ADN extracelular (eDNA) y proteínas extracelulares (8).

El modo de crecimiento de las biopelículas es ventajoso para los microorganismos, ya que forman comunidades estructuradas tridimensionales con canales fluidos para el transporte de sustrato, productos de desecho y moléculas de señal. La formación de biopelículas en los conductos radiculares probablemente se inicie en algún momento después de la primera invasión de la cámara pulpar por microorganismos orales

planctónicos después de cierta degradación de los tejidos, según la hipótesis de Svensäter y Bergenholtz (7).

Las células bacterianas sésiles (estado de biopelícula) difieren mucho de las células bacterianas que flotan libremente (estado planctónico). Las propiedades fisiológicas de las bacterias en las biopelículas son diferentes en comparación con las de la misma bacteria en un medio de cultivo, en parte porque los microorganismos en las biopelículas están protegidos del estrés ambiental por su matriz. Los microbios dentro de la biopelícula pueden ser alrededor de 1000 veces más resistentes a los agentes antimicrobianos y los mecanismos de defensa del huésped que sus contrapartes planctónicas (8).

La microflora bacteriana del conducto radicular está dominada inicialmente por aerobios y anaerobios facultativos. A medida que avanza la enfermedad, cambia la ecología dentro del sistema de conductos radiculares. Dichos cambios pueden estar relacionados con la tensión de oxígeno cuando se abren los conductos radiculares durante el tratamiento, el uso de agentes irrigantes en el conducto radicular y los cambios en el pH del conducto debido a diversos materiales introducidos en el conducto radicular. La infección endodóntica puede ser primaria o secundaria (8).

### **2.8. PROCESO INFLAMATORIO**

La respuesta de los tejidos perirradiculares ante varias agresiones es similar a la de otros tejidos conjuntivos de otros lugares del cuerpo. La respuesta se manifiesta como una reacción inmunoinflamatoria. Aunque la infección microbiana de la pulpa en los

conductos de las raíces es la causa más importante de la periodontitis apical, esta no suele ser causados directamente por los propios microbios sino por sus toxinas. Las toxinas bacterianas (p. ej., lipopolisacáridos [LPS], ácido lipoteicoico [LTA]) y subproductos metabólicos nocivos que salen del sistema de conductos radiculares hacia los tejidos periapicales y son capaces de inducir una reacción inmunoinflamatoria periapical. Las respuestas inmunoinflamatorias del huésped son bastante variadas y pueden consistir en cambios en la microvasculatura, trans migración de células sanguíneas y proteínas plasmáticas desde la circulación sanguínea al espacio tisular, y la activación de nervios sensitivos. Además de las células endoteliales, también están implicados en la respuesta inmunitaria inflamatoria los mastocitos, plaquetas, fibroblastos, neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células inmunitarias innatas y adaptativas, inmunoglobulinas, mediadores de la inflamación, citocinas proinflamatorias, quimiocinas y neuropéptidos (2).

Estas sustancias activan el sistema inmunitario innato a través de receptores que reconocen los patrones moleculares asociados a patógenos (PMAP) que se encuentran en la estructura de esas toxinas. Diferentes clases de microbios expresan distintos patrones moleculares que son reconocidos por diferentes receptores de reconocimiento del patrón (RRP) o receptores tipo toll (TLR) en las células huésped, como los fagocitos, las células dendríticas y los linfocitos B1. Los RRP o los TLR se codifican en la línea germinal. En los mamíferos existen al menos diez TLR y cada uno de ellos tiene una función distinta en el reconocimiento inmunitario innato. Los LPS pueden estimular las fibras nerviosas sensitivas para liberar el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y la sustancia P (SP) para producir vasodilatación y aumento de la permeabilidad

vascular. Los LPS y las lipoproteínas también pueden activar los TLR en las células dendríticas para estimular la diferenciación de los linfocitos T4. Ciertos subtipos de TLR reconocen las características estructurales compartidas más frecuentes de varias toxinas (como los PMAP). Dado que los TLR son sintetizados antes de la infección, se clasifican dentro del sistema inmunitario innato (2).

### **2.9. TRATAMIENTO DE CONDUCTOS**

El tratamiento de conducto radicular consiste en la eliminación completa de la pulpa que ha sufrido un daño irreversible y de todo el tejido remanente, limpieza, configuración y obturación del sistema del conducto radicular, de manera que se pueda conservar el diente como una unidad funcional dentro del arco dental (2).

#### **2.9.1. *Triada endodóntica***

En 1958, Ingle señala que la piedra angular del éxito en el tratamiento de conducto está en el cumplimiento de la llamada Tríada Endodóntica, compuesta por tres principios básicos: asepsia, preparación biomecánica y sellado apical (9).

La preparación mecánica de los conductos radiculares debe ser complementada con la irrigación de estos, con soluciones desinfectantes (10). El irrigante o la combinación de irrigantes ideales elimina las bacterias, disuelve el tejido necrótico, lubrica el conducto, elimina la capa de barrillo dentinario y no irrita los tejidos sanos (11). Así mismo, otros factores que también pueden ser utilizados en la reducción significativa del dolor postoperatorio (12).

## **2.10. DOLOR**

El dolor es la causa más frecuente de consulta médica-dental, por lo cual la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor definió el dolor como "una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial" (13). Lo que hace que hoy en día se implementen u/o agreguen técnicas para la disminución del dolor.

Los síntomas asociados con la pulpitis sintomática irreversible, la necrosis pulpar y la periodontitis apical sintomática pueden estar relacionados con diferentes factores, incluidos cambios en la presión periapical, factores microbianos, mediadores químicos del dolor y factores psicológicos, que finalmente conducen a los pacientes a buscar atención dental de emergencia (14).

### **2.10.1. Control del dolor**

Se han desarrollado varias estrategias para el tratamiento eficaz contra el dolor, incluida la prescripción de analgésicos profilácticos y corticosteroides, la administración de anestesia de larga duración, la preparación del conducto radicular mediante la técnica de corono-apical y la reducción oclusal (15).

Sin embargo aunque una forma de revertir el proceso inflamatorio y controlar el dolor es con medicamentos y a pesar de ser medicamentos relativamente seguros, se han informado efectos secundarios como intolerancia gastrointestinal y trastornos renales, hepáticos y respiratorios como el asma (16).

### 2.11. CRIOTERAPIA

La Crioterapia es un tipo de termoterapia superficial que se basa en la aplicación del frío como agente terapéutico. La reducción de la temperatura del organismo tiene como finalidad el alivio del dolor y/o la reducción del edema, a través de la generación de una respuesta tisular, fundamentada en la transferencia térmica de energía calórica que generara diversas respuestas fisiológicas en función del objetivo terapéutico buscado (17).

El término crioterapia se deriva de la palabra griega cryos, que significa "frío". En fisioterapia, significa bajar o disminuir la temperatura de los tejidos. 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 frío o calor, el tiempo de exposición, la conductividad térmica de los tejidos y el tipo de agente utilizado para aplicar el calor o frío. El uso de este tipo de terapia en tejidos humanos provoca cambios en la temperatura local del huésped. Las 3 respuestas fisiológicas básicas del tejido después de la aplicación de calor o frío son un aumento o disminución del flujo sanguíneo local, la estimulación o inhibición de los receptores neurales en la piel y los tejidos subcutáneos, y un aumento o disminución de la actividad metabólica (16).

El uso de la crioterapia se remonta al siglo IV a.C. en la época de Hipócrates, quien la recomendaba como tratamiento en las lesiones musculoesqueléticas agudas. A través de los años también ha sido empleada para la disminución del dolor, la reducción de la espasticidad muscular, el mejoramiento del rango de movimiento (ROM), la estimulación de la circulación y el tratamiento posquirúrgico de procedimientos artroscópicos (18).

La disminución de la temperatura depende de la capacidad de la modalidad para absorber y transferir calor a los tejidos, del tiempo de aplicación, el tipo de modalidad utilizada y la actividad efectuada después del enfriamiento (19).

### **2.11.1. Crioterapia en endodoncia**

En odontología, la utilización de la crioterapia ha sido usada con mayor frecuencia en procedimientos quirúrgicos bucales. Felho et al. 2005 estudio la reducción de la inflamación, el dolor y el trismo después de la extracción del tercer molar. Descubrieron que había una diferencia estadística significativa en la reducción de la inflamación y el dolor, mientras que no había una diferencia significativa en la reducción del trismo (20).

Pese a que la eficacia de esta terapia se encuentra bien fundamentada en la literatura en estos procedimientos, son escasas las pruebas que aseguran que exista un efecto beneficioso sobre los tejidos periradiculares. Sin embargo, en los últimos años, se han realizado pocos estudios que nos informan sobre el uso de una solución fría como un irrigante intraconducto en endodoncia para reducir el dolor postoperatorio en el tratamiento endodóntico (21).

El manejo del dolor durante y después del tratamiento de conducto es uno de los aspectos más importantes de la práctica endodóntica. El dolor posoperatorio es desagradable y se describe como un malestar experimentado por los pacientes; se informa con una alta tasa de incidencia que oscila entre el 3 y el 58%. En general, se acepta que existen varios factores que afectan el dolor posoperatorio, incluido el estado de la pulpa y los tejidos periradiculares, el dolor preoperatorio y la presencia de radiolucidez periapical (12).

El factor más común que provoca la post-endodoncia son los restos de microorganismos, la irrigación endodóntica, la gutapercha, el sellador endodóntico y la edicación intracanal son factores que pueden causar irritación y dolor post-endodóntico (Siqueira y Barnett, 2004; AIRahabi, 2017). No hay diferencia entre los tratamientos de conducto de una sola visita y de visitas múltiples sobre el dolor post-endodóntico (Manfredi et al., 2016; AIRahabi, 2017) (22).

Jorge vera y colaboradores realizaron un estudio in vitro donde demostró que el uso de solución salina fría como el irrigante final reduce la temperatura de la superficie externa de la raíz en más de 10 ° C y la mantiene durante 4 minutos, lo que puede ser suficiente para producir un efecto antiinflamatorio local en los tejidos perirradiculares (16).

Talal Al-Nahlawi y colaboradores evaluaron el dolor post-endodóntico que fue representado los valores más altos después de 6 horas de tratamiento, y se redujo a casi cero después de 1 semana. Después del uso de la crioterapia intraconduto se eliminó en su totalidad el dolor post-endodóntico. (23).

El resultado de otra investigación indica que la irrigación con solución salina fría a 2.5 °C como irrigante final puede resultar en una reducción significativa en los niveles de dolor posoperatorio en comparación con el grupo de control. La crioterapia es una opción simple, rentable y no tóxica para el control del dolor posoperatorio en el tratamiento de conducto radicular en una sola visita (12).

Cuando la temperatura disminuye, ocurre vasoconstricción y restringe la formación de edemas. La vasoconstricción también disminuye el metabolismo celular, lo que reduce la demanda de oxígeno de las células y limita la producción de radicales libres en los

tejidos. También se ha informado que las enzimas inflamatorias aumentan con el aumento de la temperatura (15), y que ralentiza las señales neuronales y reduce la liberación de mediadores químicos responsables de la conducción del dolor (22).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El proceso inflamatorio es una de las condiciones más comunes entre los pacientes que buscan atención medica-dental urgente, y unos de los mayores retos dentro del tratamiento endodóntico es el de evitar provocar dolor y/o inflamación en los pacientes al término de este mismo, por lo que las siguientes preguntas cobran una importancia vital en torno al plan de tratamiento; ¿Podríamos considerar la crioterapia como una alternativa válida para la reducción del dolor postoperatorio?, ¿El tiempo y la temperatura con que utilizamos la solución irrigante tendrán injerencia en la ausencia o presencia de células inflamatorias?

## **IV. JUSTIFICACIÓN**

La toma indiscriminada de analgésicos se ha convertido en un problema cotidiano entre los pacientes que los consumen. Hoy en día las reacciones secundarias son más comunes debido a la falta de información acerca del uso correcto de los medicamentos, es por eso por lo que la investigación se centrará en introducir la crioterapia como una alternativa en la reducción de la inflamación y por consecuencia la reducción o eliminación completa de dolor. La viabilidad y factibilidad de tener un modelo in situ nos permitirá poder realizarlo en humanos con la certeza de que existe un cambio cuando se presenta un cuadro clínico con dolor y por ende generar cambios en la población afectada por este tipo de problemas poniendo a disposición terapias alternativas que generen menos efectos secundarios adversos al organismo.

## **V. HIPÓTESIS**

### **5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

La aplicación de crioterapia in situ nos permitirá observar diferencias en la presencia o ausencia de células inflamatorias, pudiendo corroborar su efectividad ante la respuesta inflamatoria local en el tejido subcutáneo de ratas.

### **5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)**

No existen diferencias significativas en la reducción de la inflamación utilizando solución salina a una temperatura de 2.5 °C.

### **5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)**

La reducción o ausencia de células inflamatorias está relacionada al tiempo de irrigación y a la temperatura de la solución irrigante.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el uso de crioterapia como alternativa para la eliminación o reducción de células inflamatorias y así determinar su eficacia en la disminución del dolor.

### **6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar la presencia o ausencia de células inflamatorias posterior a la inyección de lipopolisacárido (LPS).
2. Evaluar la efectividad de la crioterapia mediante un catéter a 1, 3 y 5 minutos.
3. Definir si la crioterapia es un método viable en la práctica odontológica para reducir el dolor post operatorio durante el tratamiento.

## **VII. VARIABLES**

### **7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE**

- Temperatura de la solución.
- Tiempo de irrigación.
- Proceso inflamatorio.

### **7.2. VARIABLE DEPENDIENTE**

- Grado de inflamación.
- Disminución o ausencia de las células inflamatorias.

### **7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES**

Análisis histológico.

Las muestras obtenidas se preservarán mediante técnica de fijación con formalina; se procesarán siguiendo la secuencia de deshidratación e inbibición en parafina para, finalmente, ser teñidas con hematoxilina y eosina y observadas en microscopio de luz.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental

### 8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Ratas de 2-4 meses de edad

### 8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

Microscopio óptico, ratas de 2-4 meses con un peso de 200 - 300 gramos, ketamina, xilacina, reactivo de LPS de *Escherichia coli*, jeringas hipodérmicas, solución salina, máquina para afeitar, isodine, plumón, pentobarbital sódico, formol al 10%, kit básico de disección, hoja de bisturí, tape rotulador, cámara digital, frascos para muestras biológicas, procesador de tejidos, inclusor de tejidos y tren de tinción.

## 8.4. METODOLOGÍA

### FASE EXPERIMENTAL

La primera parte de la experimentación de este estudio consistió en establecer un grado de inflamación de moderado a severo, para posteriormente aplicar la crioterapia y de esta manera evaluar su efecto antiinflamatorio (24).

Para este punto fue necesario utilizar dos ratas en el cual se afeitaron y realizaron asepsia y antisepsia en la superficie ventral (24).

En la primera rata se dividió y marco en dos zonas (craneal y caudal) en las cuales se colocó por medio de una inyección subcutánea de LPS de *E. Coli* un volumen de 0.5 mg/kg en la zona craneal de la rata y en la zona caudal se colocó 0.5 mg/kg LPS de *E.Coli* con hierro esperando un tiempo de 45 minutos para ser tomados los cortes (24).

En la segunda rata se realizó el mismo procedimiento, pero a diferencia de la rata 1 se esperó un tiempo de 60 minutos para ser tomados los cortes (24).

### FASE EXPERIMENTAL CON CRIOTERAPIA

#### PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

- Se procedió a anestésiar a las ratas a través de una inyección intraperitoneal con xilacina 10 mg/kg y ketamina 25 mg/kg (Fig. 1).

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

- Posteriormente recibieron asepsia y antisepsia del lomo y de la superficie ventral con solución de yodo, para posteriormente ser afeitadas y marcadas con los grupos correspondientes (Fig2).



Figura 1. Preparación de las soluciones anestésicas.

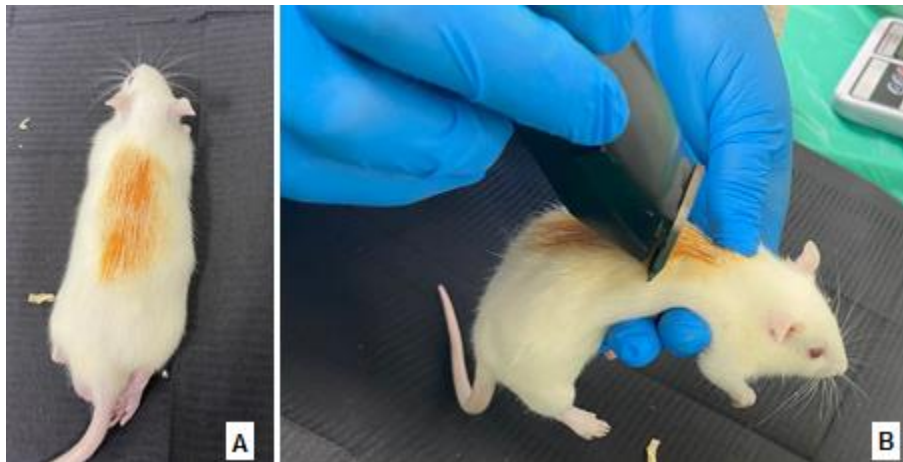


Figura 2 A. Asepsia y antisepsia. B. Depilación de la zona dorsal.

### **DIVISIÓN DE LOS GRUPOS:**

Para este estudio fue necesario la utilización de 9 ratas que estarán divididas en 3 grupos teniendo 4 zonas trabajo para posteriormente ser muestras de recolección

- **(G1): APLICACIÓN DE CRIOTERAPIA POR 1 MINUTO:**

**Muestra 1:** Colocación de *LPS* en la superficie rostral del dorso de la rata y aplicación de crioterapia por 1 minuto con la solución salina a 2.5 °C.

**Muestra 2:** Colocación de *LPS* en la superficie caudal del dorso de la rata sin manipulación posterior.

**Muestra 3:** Colocación de catéter sin crioterapia en zona rostral de la parte ventral.

**Muestra 4:** Tejido sano sin manipulación posterior en zona caudal de la parte ventral.

- **(G2): APLICACIÓN DE CRIOTERAPIA POR 3 MINUTOS:**

**Muestra 1:** Colocación de *LPS* en la superficie rostral del dorso de la rata y aplicación de crioterapia por 3 minutos con la solución salina a 2.5 °C.

**Muestra 2:** Colocación de *LPS* en la superficie caudal del dorso de la rata sin manipulación posterior.

**Muestra 3:** Colocación de catéter sin crioterapia en zona rostral de la parte ventral.

**Muestra 4:** Tejido sano sin manipulación posterior en zona caudal de la parte ventral.

- **(G3): APLICACIÓN DE CRIOTERAPIA POR 5 MINUTOS:**

**Muestra 1:** Colocación de *LPS* en la superficie rostral del dorso de la rata y aplicación de crioterapia por 5 minutos con la solución salina a 2.5 °C.

**Muestra 2:** Colocación de *LPS* en la superficie caudal del dorso de la rata sin manipulación posterior.

**Muestra 3:** Colocación de catéter sin crioterapia en zona rostral de la parte ventral.

**Muestra 4:** Tejido sano sin manipulación posterior en zona caudal de la parte ventral.

**PROCEDIMIENTO:**

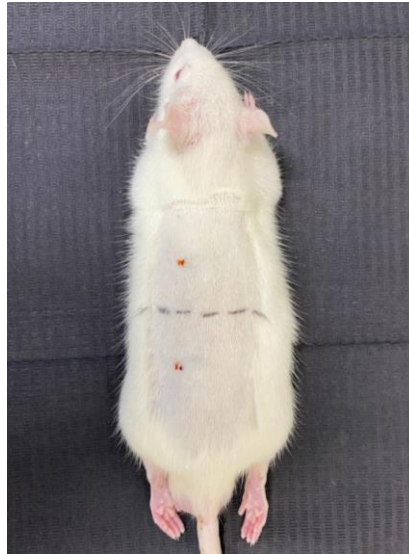
- Se inyectó un volumen de 0.5 ml/kg de *LPS* con hierro en el tejido subcutáneo de la rata (Fig.3).



Figura 3. Colocación de *LPS* en tejido subcutáneo.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

- Se espero 45 minutos a que el proceso de inflamatorio se desarrollara por completo, descrito en la primera parte experimental (Fig.4).



*Figura 4. Desarrollo del proceso inflamatorio.*

- Se implanto un catéter calibre 14G de la casa BD Insyte de extremo a extremo en la zona de inyección del *LPS* (Fig.5).
- Posteriormente se conectó a un sistema de venoclisis para iniciar proceso de crioterapia a 1, 3 y 5 minutos en los sitios correspondientes con un flujo continuo mediante jeringas hipodérmicas con solución salina a 2.5 °C conectadas al catéter (Fig.5).
- Se repitió el protocolo hasta realizar cada uno de los grupos descritos anteriormente.

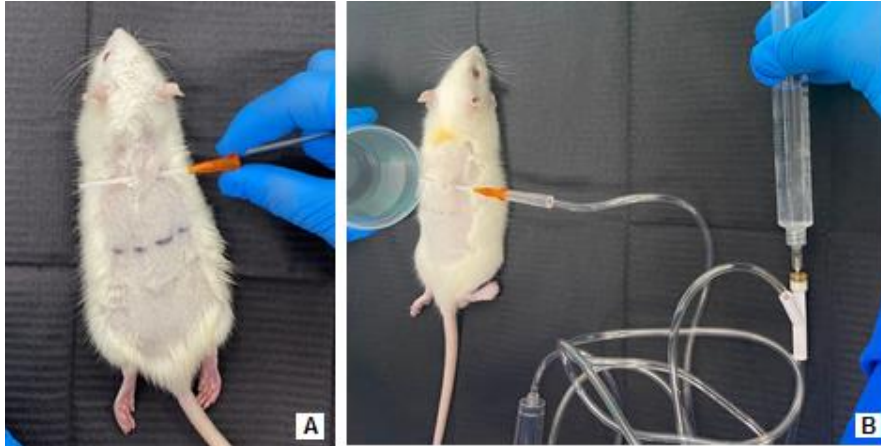


Figura 5. A. Implantación de catéter calibre 14G. B. Conexión del equipo de venoclisis e inicio de protocolo de irrigación.

#### RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS:

- En este proceso fue necesario sacrificar a los animales con una sobredosis de pentobarbital sódico, utilizando una inyección intraperitoneal (Fig.6).
- Posteriormente, con un kit de disección básico y una hoja de bisturí número 15 se realizaron cortes aproximadamente 2 cm x 2 cm de cada grupo para después ser colocados en formalina al 10% para su fijación y posterior observación al microscopio.

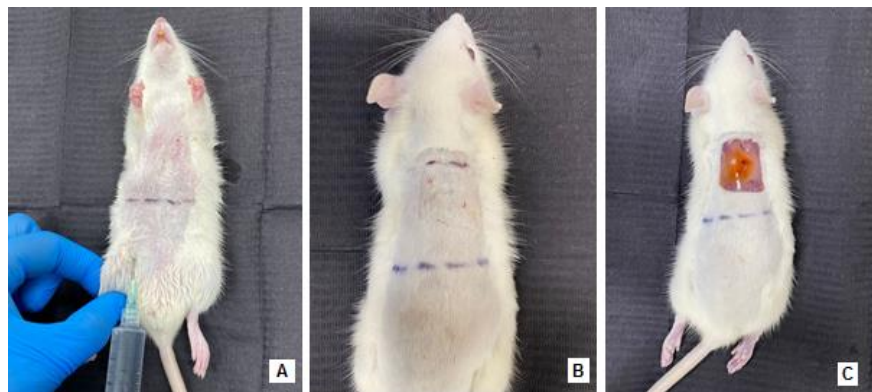
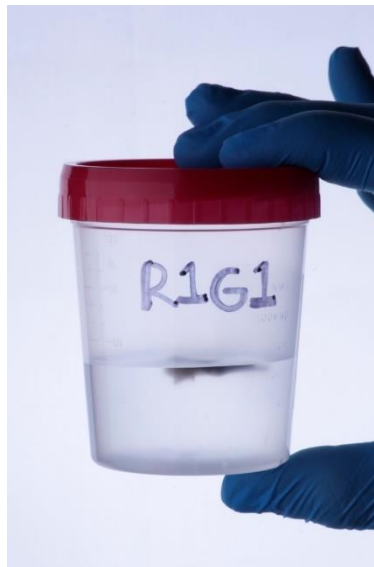


Figura 6. A. Colocación de sobredosis de pentobarbital sódico. B. Incisión realizada con hoja de bisturí. C. Toma de muestra.

## PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

### Fijación

Las muestras de tejidos en estudio se fijaron en solución de formaldehído al 10% (formalina) con relación líquido-volumen de 3:1 (Fig.7). El tiempo que permaneció el tejido sumergido en la formalina dependió del volumen del fragmento tisular; sin embargo, no excedió las 48 horas ni fue menor a 12 horas. Para garantizar la adecuada conservación celular, el formol al 10% se amortiguó con fosfatos para regular el pH neutro.



*Figura 7. Muestra en solución de formaldehído al 10%.*

### Análisis macroscópico

Una vez fijadas, las muestras fueron analizadas macroscópicamente detallando las características anatómicas de la superficie y en los cortes longitudinales que se

realizaron a cada muestra. Se identificaron las cápsulas con la referencia alfanumérica del frasco que contenía cada una de las muestras; a continuación, se procedió al tratamiento de deshidratación, imbibición e inclusión en parafina de los cortes seleccionados. En los casos que así lo permitió el espacio y el tamaño del tejido, las muestras se incluyeron en su totalidad.

### **Deshidratación e imbibición en parafina**

Las muestras se deshidrataron cuidadosamente con alcohol y xilol. El alcohol se eliminará por tratamiento con productos intermedios solubles en alcohol y parafina.

El proceso de deshidratación e imbibición en parafina de las muestras se realizó de manera automática con ayuda del procesador centrífugo de tejidos modelo Thermo Scientific™ STP 120 siguiendo el protocolo que se lista a continuación:

- Formol 1 hora
- Formol 1 hora
- Alcohol 60% 1 hora
- Alcohol 80% 1 hora
- Alcohol 96% 1 hora
- Alcohol absoluto 1 hora
- Alcohol absoluto 1 hora
- Alcohol absoluto 1 hora
- Xilol 1 hora

- Xilol 1 hora
- Parafina 1 hora
- Parafina 1 hora

### **Inclusión en parafina**

Al finalizar el ciclo descrito, se procedió a la inclusión de las muestras en bloques de parafina mediante el uso del inclusor de tejidos. Configurados los bloques de parafina mediante los moldes metálicos que ajustaron al tamaño de cada pieza de tejido, se esperó a que la parafina solidificara para entonces realizar los cortes en el microtomo.

### **Corte y montaje de portaobjetos**

Con un microtomo de rotación manual, tipo Minot, se realizaron cortes de los moldes que contenían las muestras en parafina. Los cortes de los bloques de parafina se realizaron de manera seriada, a un espesor promedio de 5 $\mu$ m. Desde la platina de corte se transportaron a la tina de flotación para ser montados sobre los portaobjetos, previamente identificados con el código alfanumérico de la cápsula correspondiente.

Cada portaobjetos, ahora con el corte montado, se trasladó a un secador de laminillas, donde la temperatura promedio fue de 49° C.

Posteriormente se sumergieron en xilol para eliminar el exceso de parafina que la exposición al calor no logró retirar. Concluido este proceso se llevaron al tren tinción correspondiente.

## **Tinción**

Todas las muestras procesadas fueron impregnadas con la tinción de rutina alcohol-ácida de hematoxilina y eosina (HyE). Una vez teñidos los cortes, se colocó resina sobre el tejido para finalmente montar sobre éste un cubreobjetos No. 1.

Concluidos estos pasos, y seca la resina, se procedió a la observación con microscopía de luz.

## **8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las características de los cortes histológicos fueron visualizados y extraídos de acuerdo con el tipo de células presentes, grado de inflamación y tipo de inflamación el cual nos permite determinar y cuantificar el numero de células y su perímetro.

Los datos obtenidos fueron evaluados mediante ANOVA de 2 vías y prueba de Tukey.

## IX. RESULTADOS

Con base a los hallazgos histológicos pudimos observar lo siguiente:

### **CONTROL (+) LPS:**

Grupo que corresponde a la colocación de *LPS* en el tejido subcutáneo; se observó que se obtuvo inflamación aguda en 4 de las muestras (44.44%), inflamación mixta en 4 de las muestras (44.44%), mientras que solo en 1 de las muestras (11.11%) se obtuvo inflamación crónica. Todas las muestras fueron observadas con un grado de inflamación de leve a moderado con presencia de neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células cebadas (Fig.8-12).

### **CONTROL (+) CATÉTER:**

Grupo en el cual fue colocado el catéter sin manipulación posterior, se pudo observar que en 7 de las muestras (77.77%) obtuvieron una inflamación aguda, 1 de las muestras inflamación mixta (11.11%) y 1 más con inflamación crónica (11.11%); de acuerdo con el grado de inflamación se observó un patrón de leve a moderado con mayor predominio moderado con presencia de neutrófilos linfocitos y células cebadas (Fig.13-15).

### **CONTROL (-):**

Grupo que corresponde a las muestras de tejido sano obtenidas de cada modelo, en el cual pudimos observar ausencia de inflamación (Fig.16).

### **(G1):**

Grupo que corresponde a la aplicación de crioterapia por 1 minuto posterior a la aplicación del *LPS*, se observó la presencia de células inflamatorias como neutrófilos,

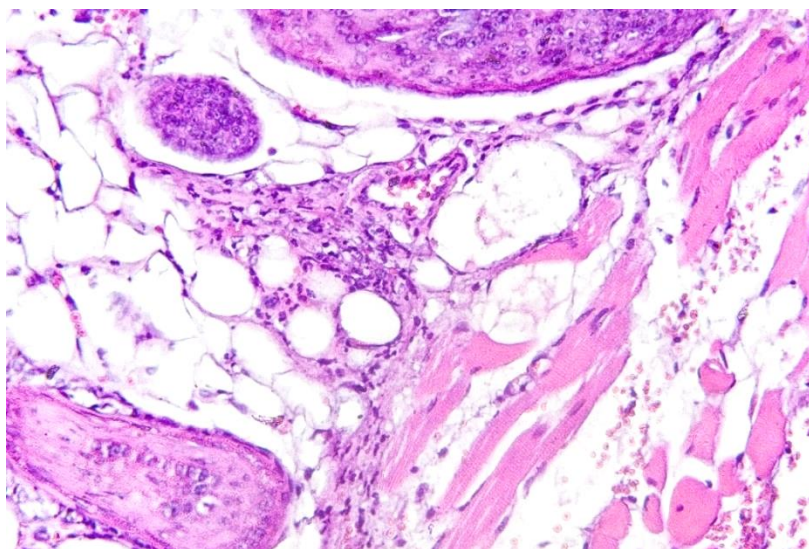
linfocitos, macrófagos y células cebadas con un patrón de inflamación aguda en un 66.66% y un 33.33% en inflamación mixta con grado de inflamación moderado en su mayoría (Fig.17-18).

**(G2):**

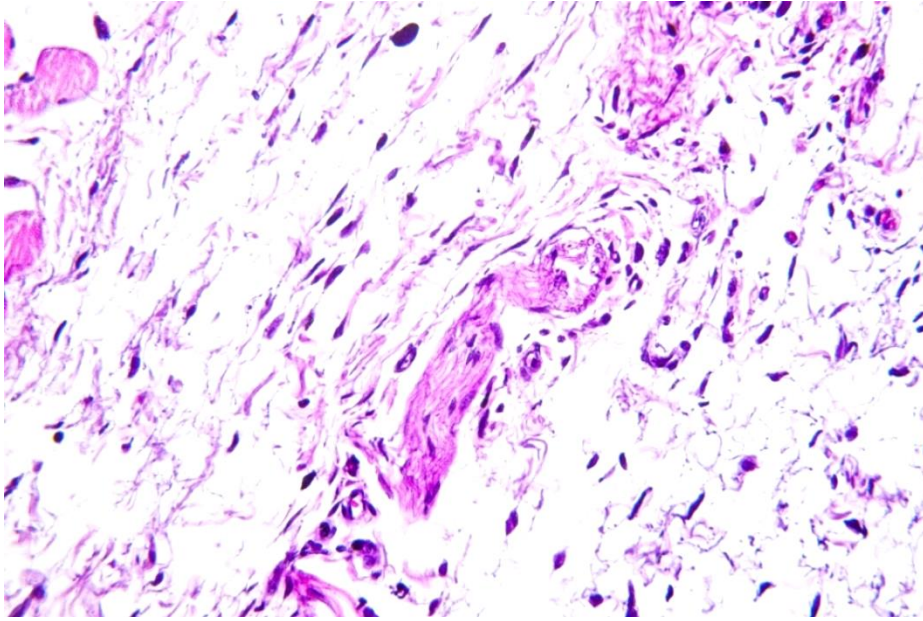
Grupo que corresponde a la aplicación de crioterapia por 3 minutos posterior a la aplicación del *LPS* en el cual se pudo observar la presencia de neutrófilos, linfocitos, macrófagos, eosinófilos y células cebadas en gran cantidad con un 100% de inflamación aguda de grado moderado/severo (Fig.19-20).

**(G3):**

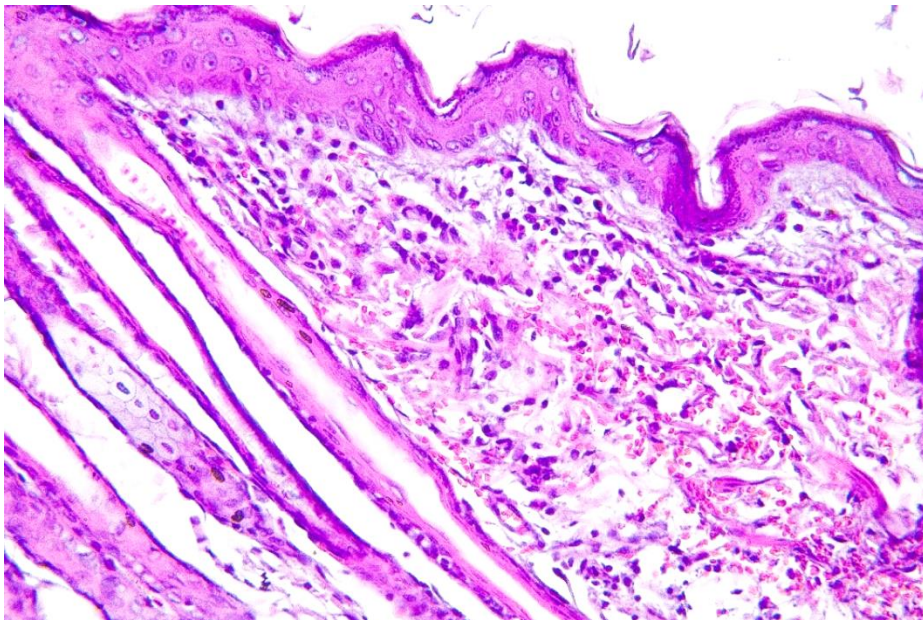
Grupo que corresponde a la aplicación de crioterapia por 5 minutos posterior a la aplicación del *LPS* se observó en menor número de células como neutrófilos, linfocitos y células cebadas en comparación al grupo control positivo; con un 100% de inflamación aguda y un 100% de inflamación grado leve (Fig.21-22).



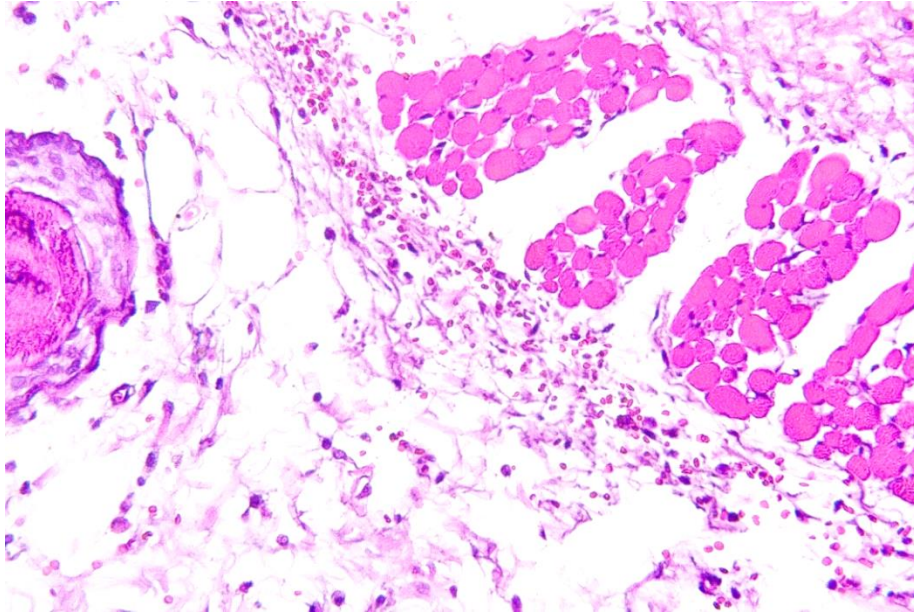
*Figura 8. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R2G2 se puede observar la presencia neutrófilos, linfocitos y células cebadas, así como una inflamación aguda de grado leve.*



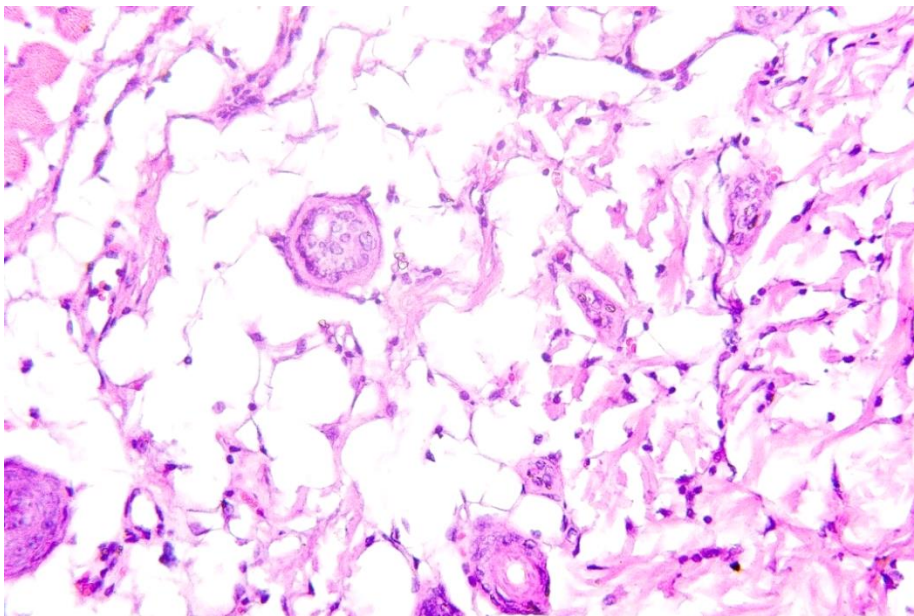
*Figura 9. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R3G2 se puede observar la presencia neutrófilos, linfocitos y células cebadas, así como una inflamación aguda de grado leve.*



*Figura 10. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R5G2 se puede observar mayor presencia neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células cebadas, inflamación mixta de grado moderada.*



*Figura 11. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R6G2 se puede observar mayor presencia neutrófilos, linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y cebadas, inflamación crónica de grado moderada.*



*Figura 12. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R9G2 se puede observar presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación mixta de grado leve.*

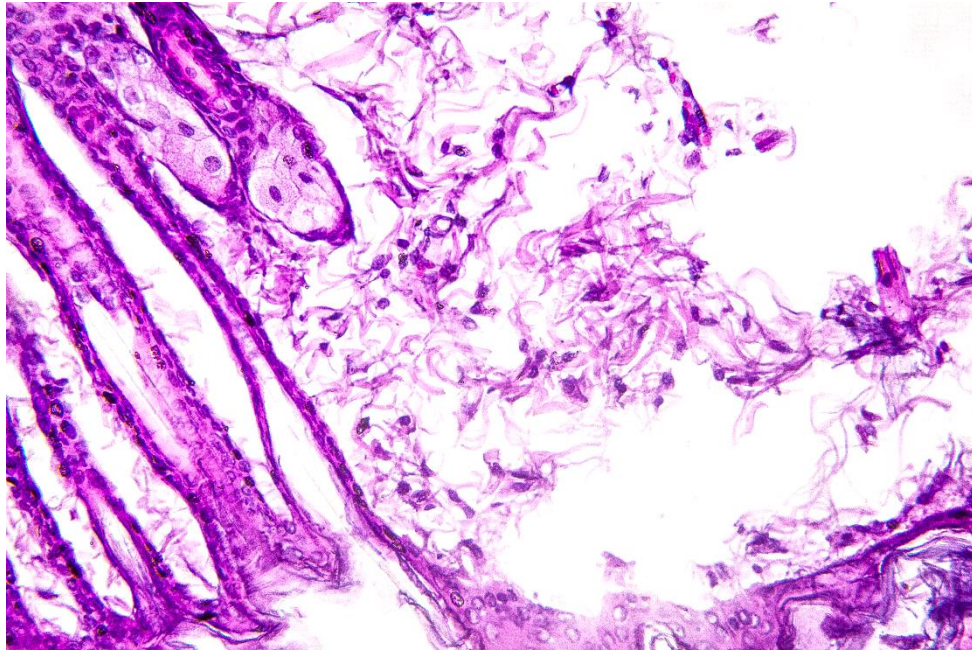


Figura 13. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R1G3 se puede observar presencia de linfocitos y macrófagos, con inflamación aguda de grado leve.

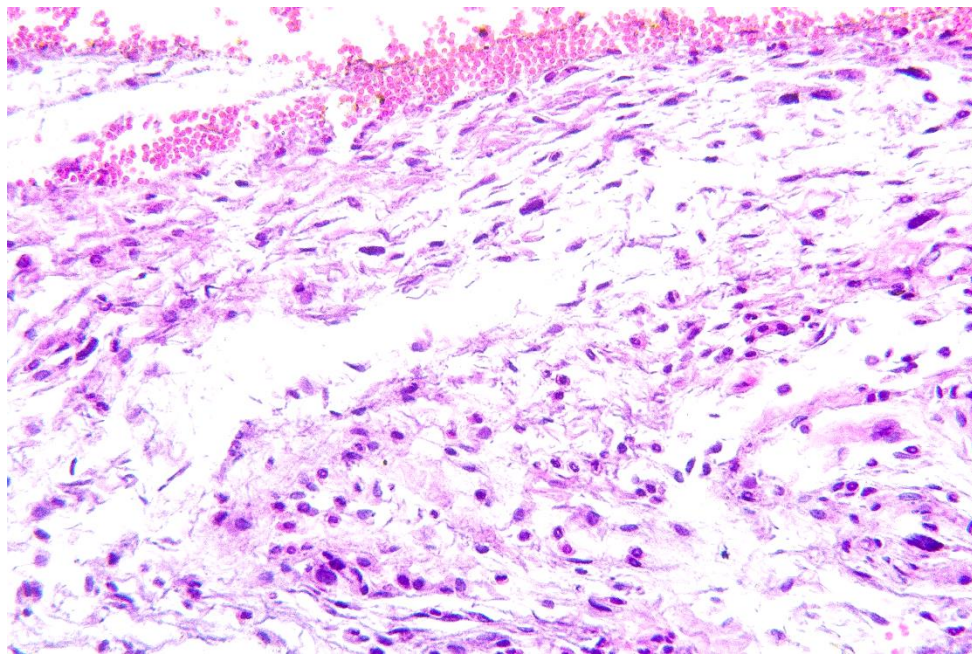
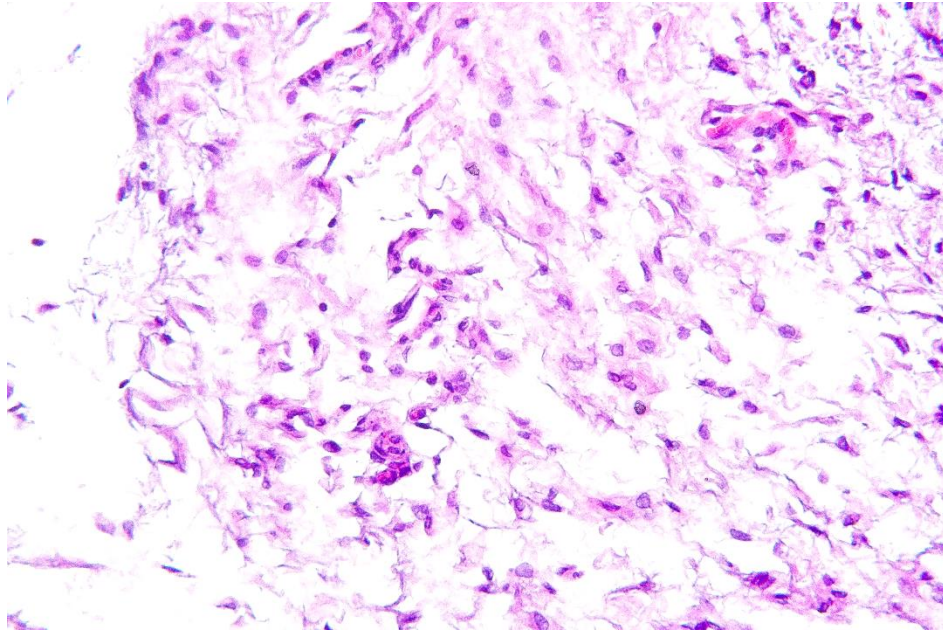
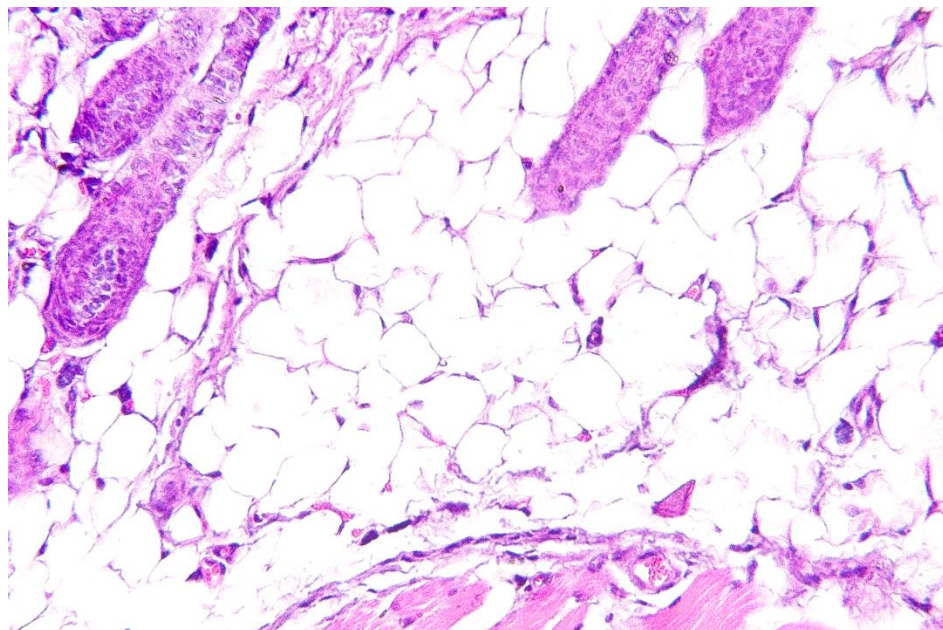


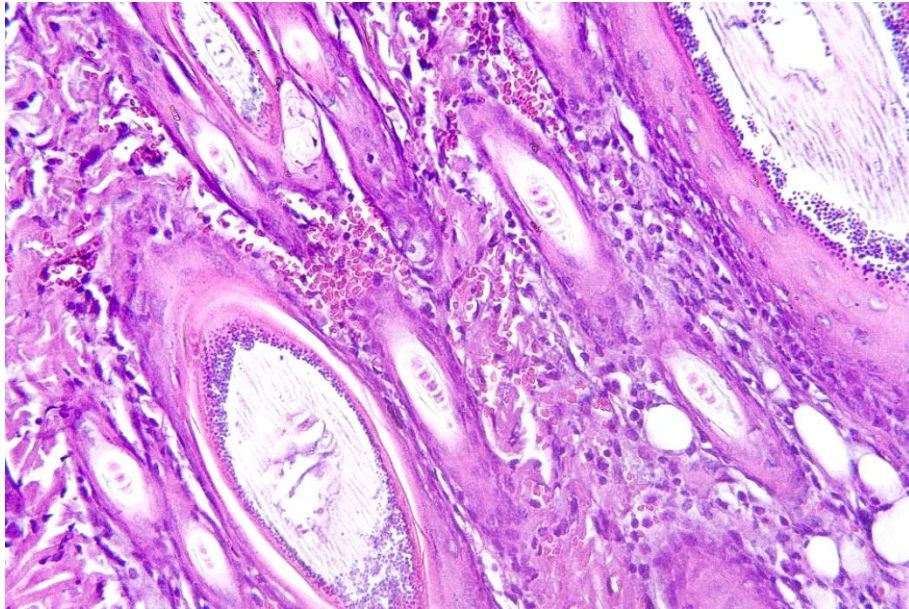
Figura 14.. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R5G3 se puede observar presencia de neutrófilos, linfocitos y células cebadas, con inflamación aguda de grado moderada y presencia de hemorragia.



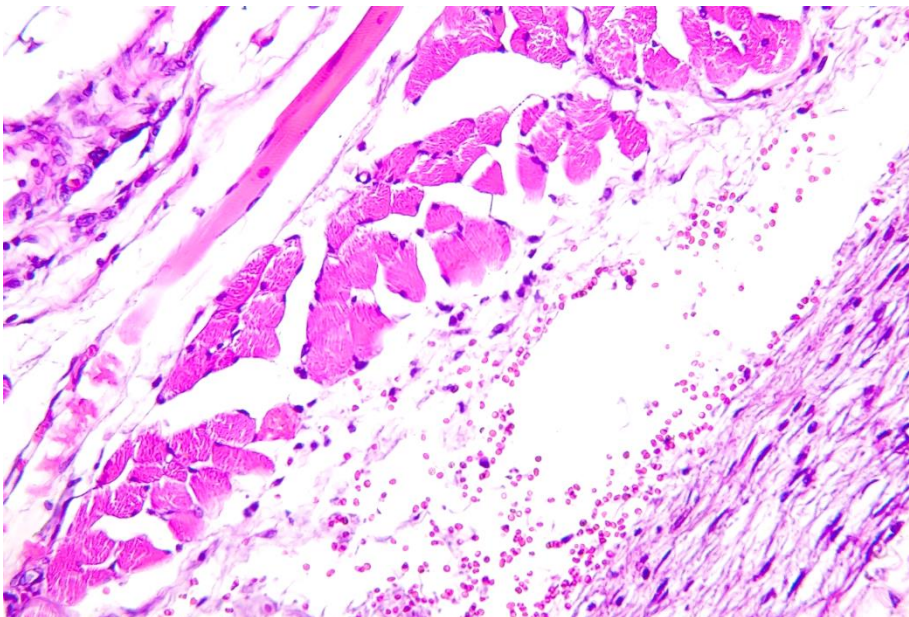
*Figura 15. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R7G3 se puede observar presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación mixta de grado moderada.*



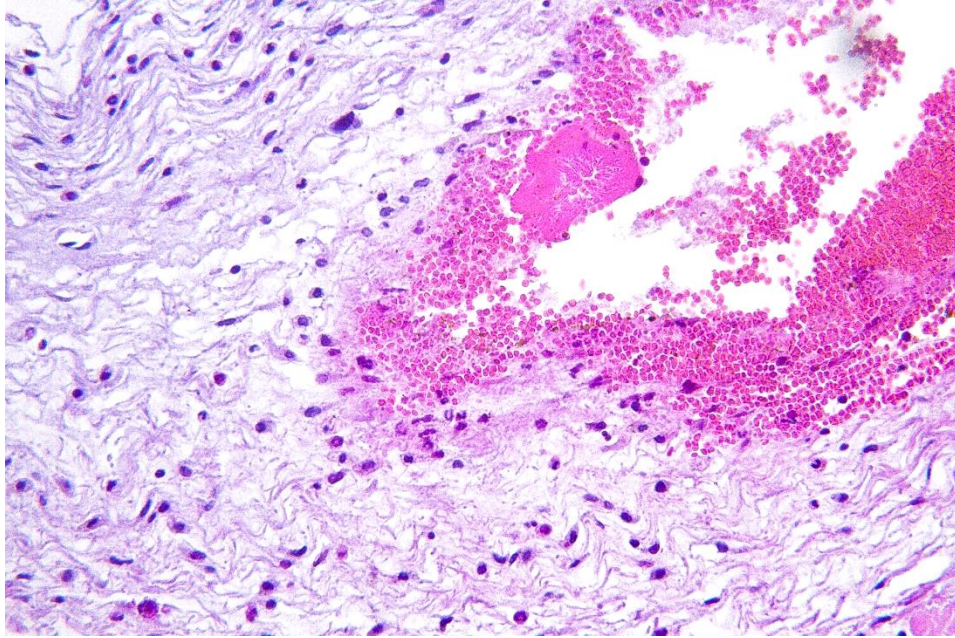
*Figura 16. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R8G4 de tejido sano donde se puede observar ausencia de inflamación.*



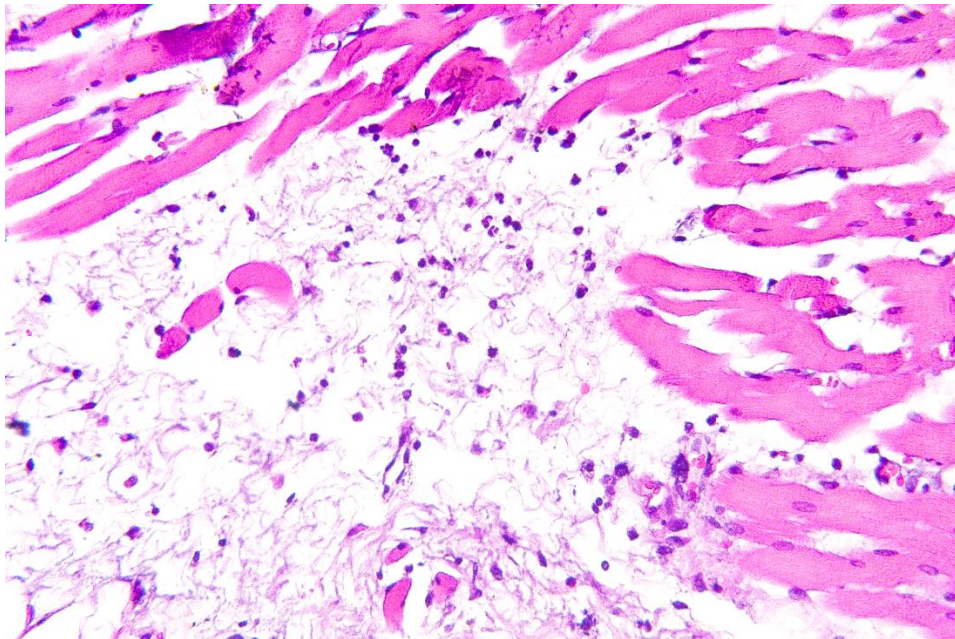
*Figura 17. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R2G1 se puede observar mayor presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación aguda de grado moderada.*



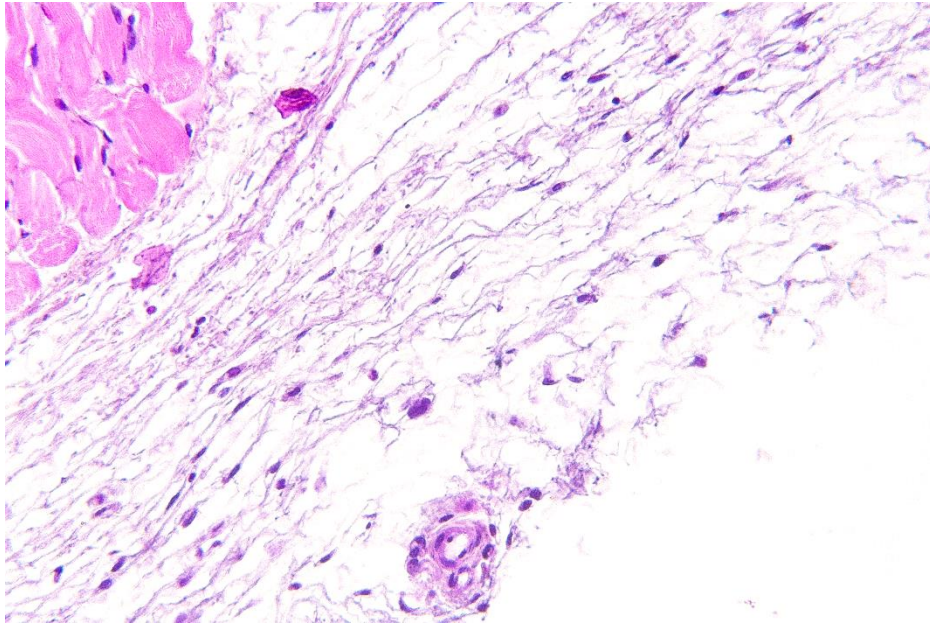
*Figura 18. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R3G1 se puede observar presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación aguda de grado leve.*



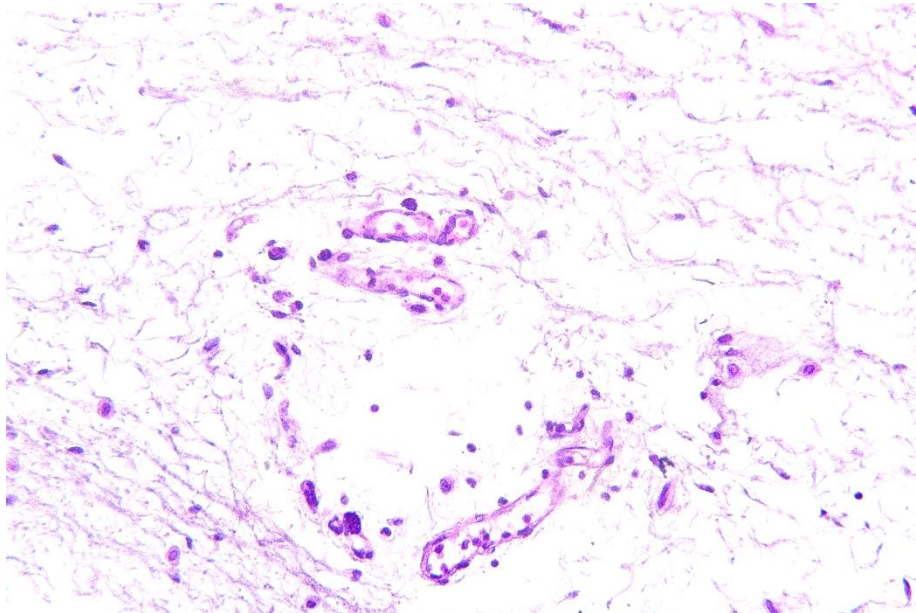
*Figura 19. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R5G1 se puede observar mayor presencia de neutrófilos, linfocitos y eosinófilos con inflamación aguda de grado moderada y con abundante hemorragia.*



*Figura 20. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R6G1 se puede observar mayor presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación aguda de grado severo y hemorragia.*



*Figura 21. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R8G1 se puede observar escasa presencia de neutrófilos, con inflamación aguda de grado leve.*



*Figura 22. Corte histológico 40X que corresponde a la muestra R9G1 se puede observar poca presencia de neutrófilos y linfocitos, con inflamación mixta de grado leve.*

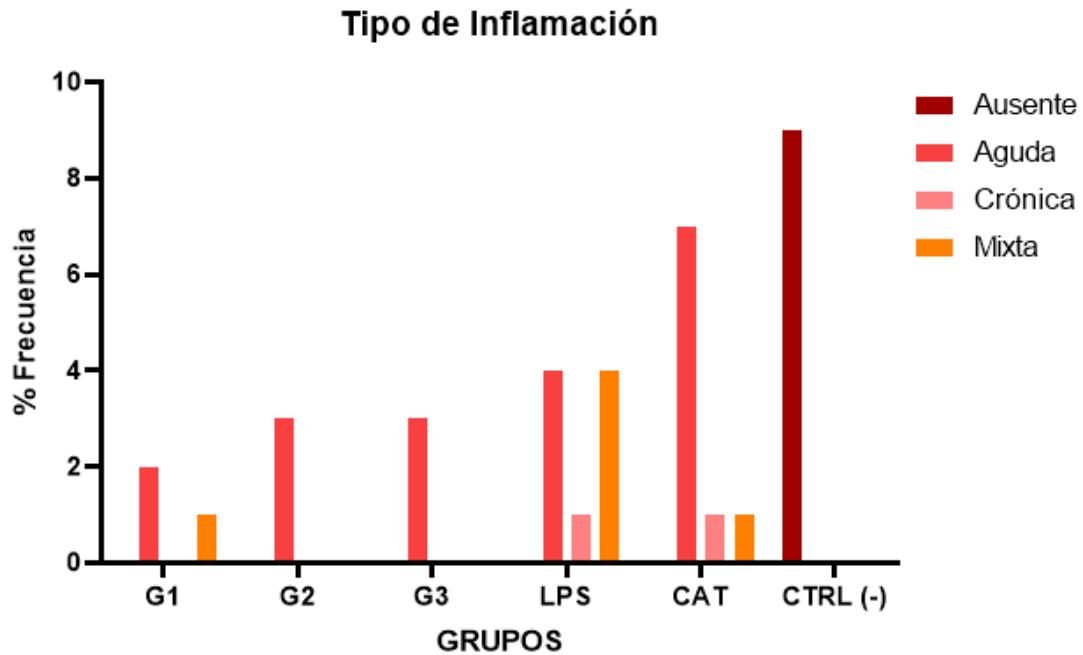


Figura 23. Representación gráfica según el tipo de inflamación presente en los diferentes grupos.

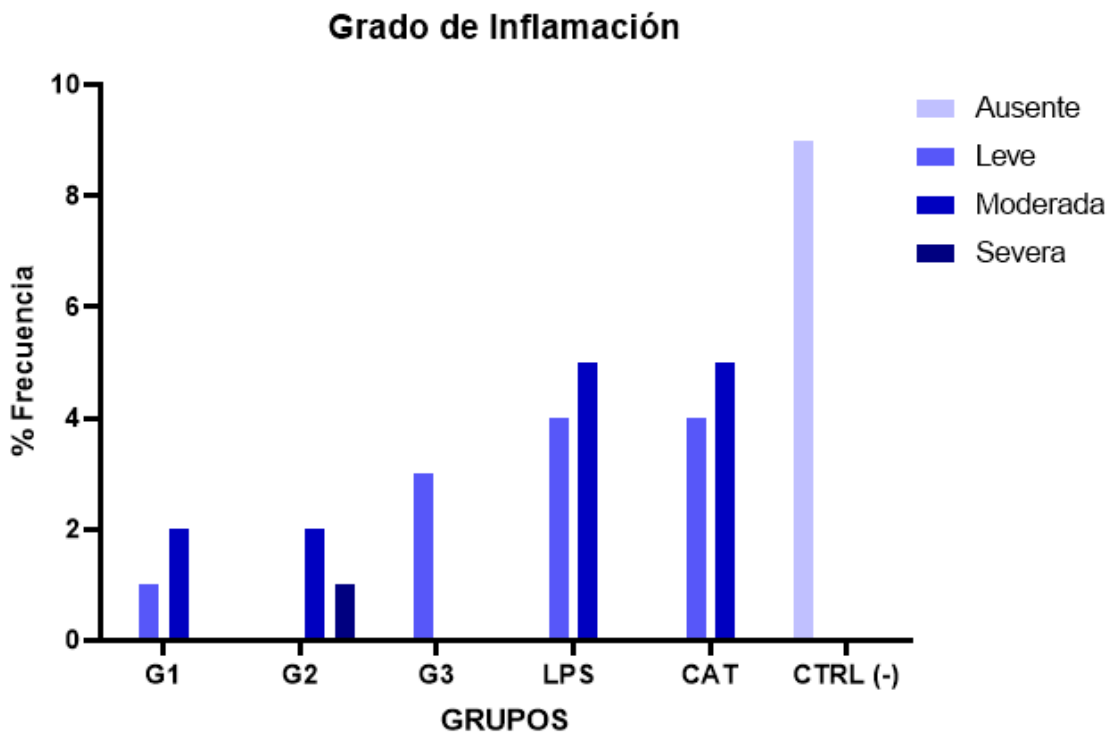


Figura 24. Representación gráfica según el grado de inflamación presente en los diferentes grupos

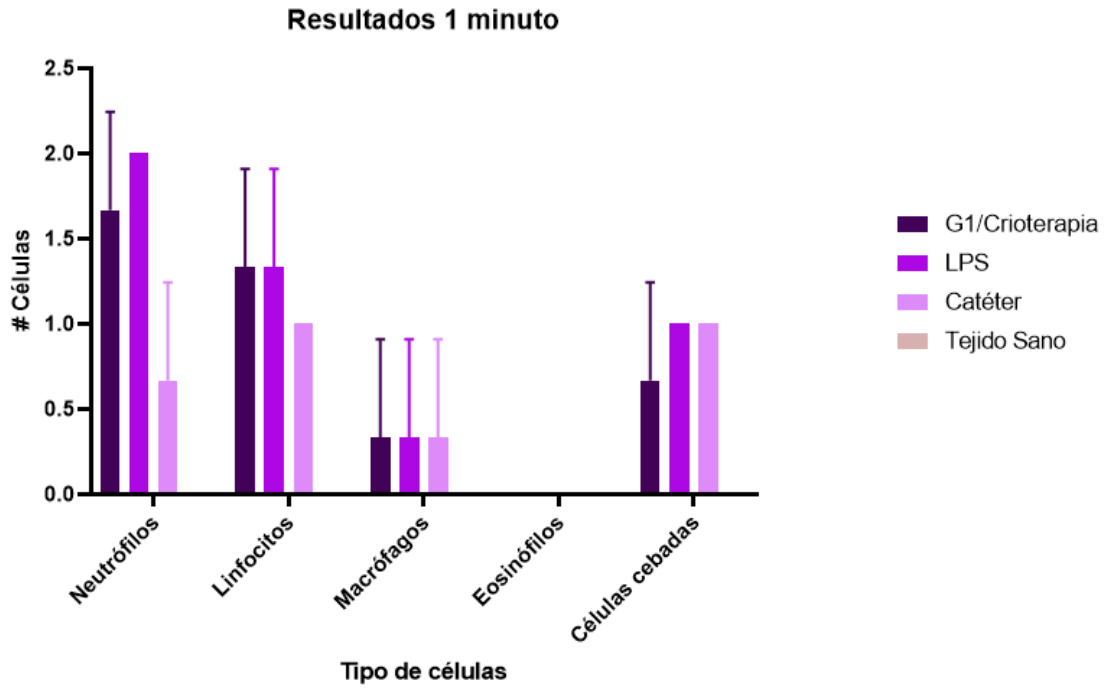


Figura 25. Numero de células presentes en el grupo de crioterapia a 1 minuto.

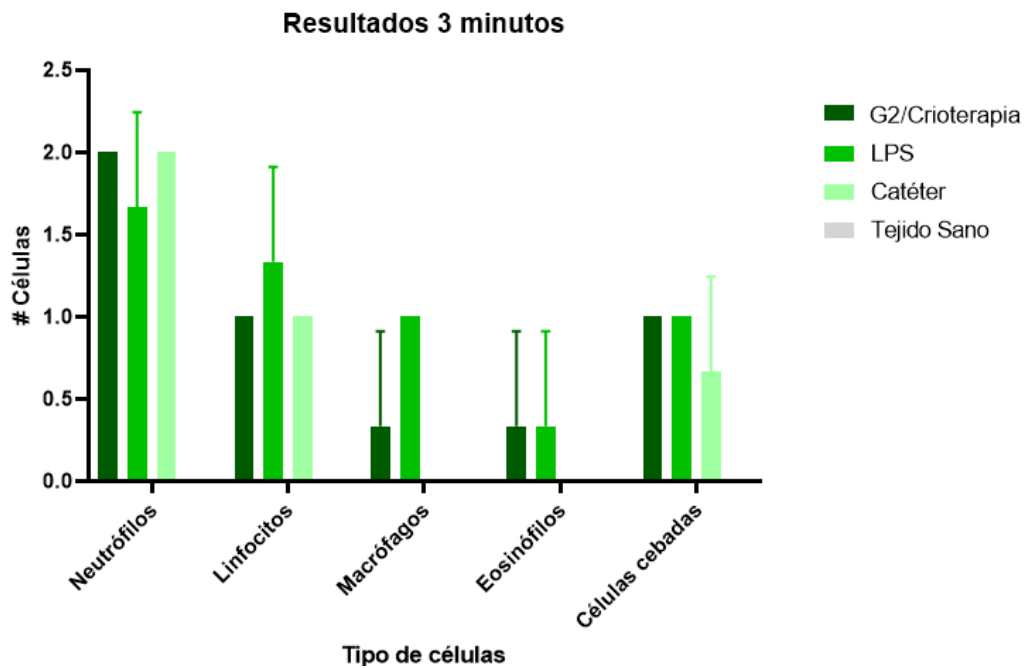


Figura 26. Numero de células presentes en el grupo de crioterapia a 3 minutos.

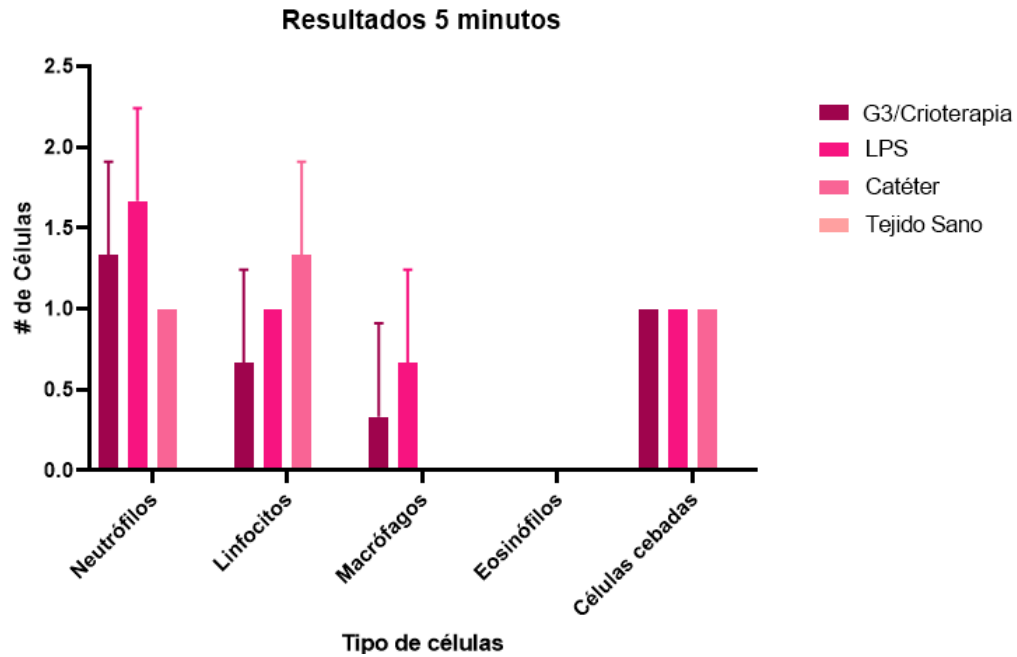


Figura 27. Numero de células presentes en el grupo de crioterapia a 5 minutos.

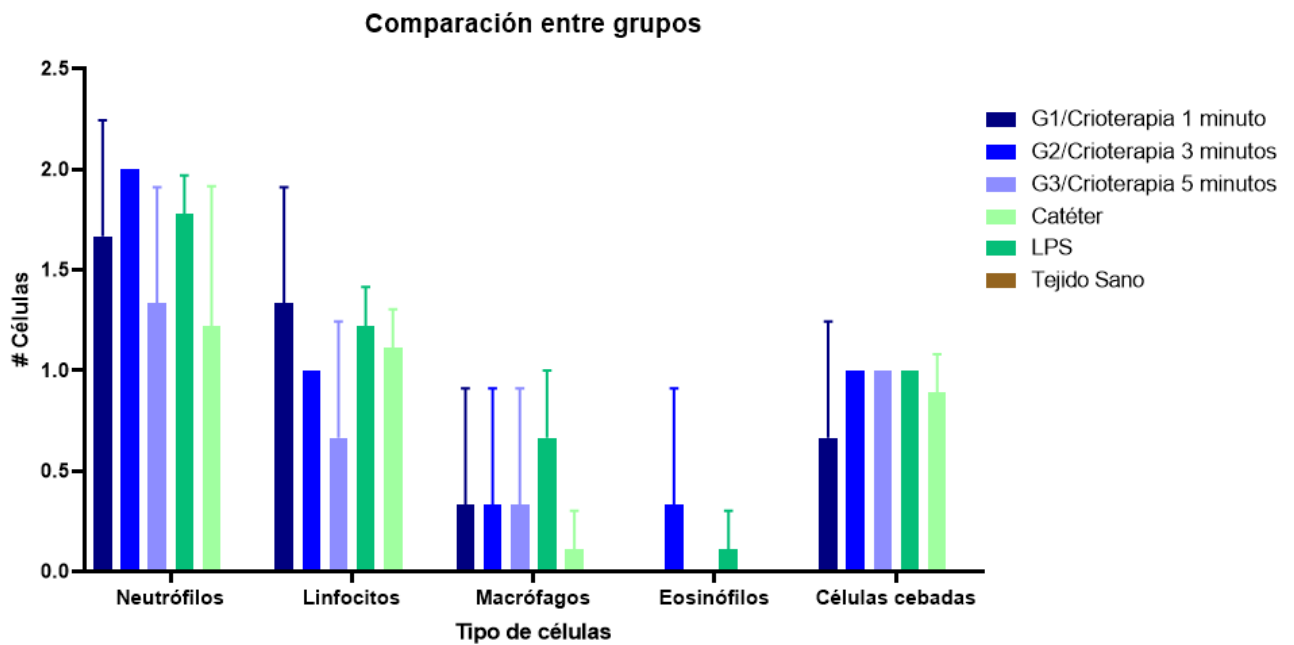


Figura 28. Numero de células presentes en los diferentes grupos.

## X. DISCUSIÓN

Debido a sus propiedades farmacológicas, los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) se ubican entre los medicamentos más utilizados en el mundo. Aproximadamente 30 millones de habitantes los usan diario para controlar el dolor agudo o crónico. No obstante, su amplio y difundido uso, estos medicamentos con frecuencia ocasionan efectos adversos tales como daño al sistema digestivo, cardiovascular y riñón (25).

Incluso si el riesgo de que un paciente individual experimente un evento adverso relacionado con AINE es relativamente bajo, el uso frecuente de AINE dentro de la comunidad significa que la posibilidad de que ocurran eventos adversos relacionados con AINE es una preocupación (26).

La crioterapia es considerada una estrategia de tratamiento no farmacológica para las lesiones musculoesqueléticas agudas y sus efectos giran en torno a la reducción del dolor y la promoción de la curación con el fin de facilitar el retorno a la función y la actividad normal (27).

Esta investigación *in vitro* tiene como propósito determinar si existen diferencias en la disminución o ausencia de células inflamatorias en inflamación subcutánea en ratas.

Malanga G. (2015), realizó una revisión de Ensayos Clínicos Aleatorizados (ECA) encontrando que los efectos fisiológicos de la terapia de frío incluyen reducciones en el dolor, el flujo de sangre, edema, inflamación, espasmo muscular, y la demanda metabólica, aunque aún sigue existiendo una necesidad continua de ECA más

suficientemente alimentados de alta calidad sobre los efectos de la terapia de frío en la recuperación de una lesión musculo esquelética aguda (28).

Sandoval M. y realizaron la colocación de crioterapia en tres modalidades donde disminuyeron la temperatura de la piel, con un efecto mayor causado por el criomasaaje (-27,6°C) (19).

Zambrano Chávez (2018) el objetivo de este estudio es determinar la efectividad del uso de la crioterapia como agente reductor de la inflamación postquirúrgica de terceros molares. En los resultados obtenidos la crioterapia redujo la inflamación en un 62% en aquellas piezas con retención mucosa y un 87% en las erupcionadas, en las piezas que presentaban posición vertical la crioterapia redujo la inflamación en un 86%, de un 50% en las vestibuloangular y un 80% en aquellas que se encontraban en posición mesioangular (29).

Vera y colaboradores (2015) realizó un estudio en el que comparaba lo cambios de temperatura en la superficie radicular al usar solución salina fría como un método de irrigación, se instrumentaron 20 dientes unirradiculares extraídos a tamaño 35 / .06 y se sometieron a 2 intervenciones de irrigación diferentes con un diseño de medidas repetidas utilizando primero hipoclorito de sodio al 5% (control) y solución salina fría a 2.5 °C después (experimental). En ambos, se administraron 20ml de la solución irrigante por un tiempo total de 5 minutos con una microcánula unida al sistema EndoVac. Donde obtuvo una reducción de 10°C manteniéndola por 4 minutos (16).

Sarango Sandra, coincide con los resultados obtenidos de Vera (2015), mostrando una reducción significativa entre la temperatura inicial antes de aplicar el nuevo protocolo de irrigación y después de aplicada las soluciones a bajas temperaturas. Llegando a existir

una reducción de 3 a 8 °C en la superficie externa radicular manteniéndose durante toda la instrumentación (21).

En el presente estudio pudimos observar que existe diferencia en la disminución de células inflamatorias en cuanto a el tiempo aplicado en grupos siendo 5 minutos el mejor tiempo para la disminución de células ya que no existe diferencias significativas de los grupos de 1 y 3 minutos en comparación con los controles positivos (LPS y catéter).

Lisa y colaboradores (2001) han informado que las temperaturas intramusculares disminuyen de 7 °C después de un tratamiento de 20 minutos, 8 °C después de un tratamiento de 30 minutos con bolsas de hielo (30).

Otros autores informan disminución de 5 °C después de un tratamiento de 20 minutos con inmersión de agua fría (31).

De acuerdo con los datos obtenidos sobre las células presentes podemos encontrar neutrófilos, linfocitos, macrófagos, eosinófilos y células plasmáticas, donde se puede comparar entre los grupos que los tiempos 1 y 3 minutos de crioterapia no logra haber disminución de las células inflamatorias debido que, visto desde el punto cronológico, los mediadores de la inflamación van a producir básicamente dos efectos. En una primera fase inicial, alteraciones vasculares que facilitan el trasvase de moléculas desde la sangre al foco inflamatorio, así como la producción de edema. En una segunda fase, más tardía, las propias alteraciones vasculares, así como la liberación en el foco de factores quimiotácticos, determinan la llegada de células inmunes procedentes de la sangre y de los tejidos circundantes (32)

## XI. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

1. El tiempo y la temperatura del irrigante juegan un papel importante en la disminución de las células inflamatorias presentes en los hallazgos histológicos.
2. No existe diferencia significativa en la reducción de las células inflamatorias en los grupos de crioterapia a 1 y 3 minutos en comparación con los controles positivos (*LPS* y catéter).
3. De acuerdo con el número de células presentes en cada uno de los grupos podemos observar que hay una disminución de células (neutrófilos y linfocitos) en el grupo donde se aplicó la crioterapia por 5 minutos en comparación con los controles positivos (*LPS* y catéter) y los grupos de crioterapia a 1 minuto y 3 minutos.
4. De acuerdo con el grado de inflamación podemos observar que el grupo correspondiente a crioterapia de 5 minutos obtuvieron 100% de inflamación leve en comparación con los grupos controles positivos.
5. Con base a los hallazgos histológicos encontrados podemos concluir que se confirma la hipótesis de trabajo en cuanto a la disminución de células inflamatorias.

## **XII. RECOMENDACIONES**

Dentro de las limitaciones este estudio se recomienda lo siguiente:

1. Se recomienda la reproducción de el modelo con mayor numero de muestras para la sustentabilidad de dicha técnica.
2. La elaboración de un modelo con tubos de dentina podría darnos datos mas reales a las condiciones que llevamos a cabo dentro del proceso de clínica.
3. Es recomendable agregar un control positivo que incluya la colocación de un lipopolisacárido + tubo de dentina sin manipulación posterior para mayor comparación.
4. Se recomienda la utilización de marcadores de inflamación como método adicional a la disminución o ausencia del proceso inflamatorio presente en cada grupo.

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Ave NS. Glossary of Endodontic Terms Ninth Edition. Am Assoc Endodontists.
2. Kenneth M. Hargreaves SC. Vias de la pulpa. Decima Edi. Vol. 8. Barcelona, España: Elsevier; 2011. 1–1082 p.
3. Canalda Carlos BE. Endodoncia Tecnicas Clinicas y Bases Cientificas. Vol. 53. 2013. 309–324 p.
4. Garc CC. Guía de diagnóstico clínico para patologías pulpares y periapicales . Versión adaptada y actualizada del “ consensus conference recommended diagnostic terminology ”, publicado por la Asociación Americana de Endodoncia ( 2009 ) Guidelines fo. Rev Fac Odontol Univ Antioquia. 2015;26:398–424.
5. Diagnosis E. Colleagues for. Publ Dent Prof Community by Am Assoc Endodontists. 2013;
6. Reyes VV, Páuca MÁ. Reacción de la pulpa dentaria ante la presencia de la caries y los tratamientos dentales. Odontol Sanmarquina. 2010;13(1):28–31.
7. Jhajharia K, Mehta L, Parolia A, Shetty Kv. Biofilm in endodontics: A review. J Int Soc Prev Community Dent. 2015;5(1):1.
8. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics—Current status and future directions. Int J Mol Sci. 2017;18(8).
9. Hilú R, Pinal FB. El éxito en endodoncia. Endodoncia (Mex). 2009;27(Nº 3):131–8.
10. Gunnar Bergenholtz, Preben Horsted-Bindslev CR. Endodoncia. Segunda edicion. Mexico: Manual Moderno; 2011.
11. Ilson Jose Soares FG. Endodoncia Tecnica y Fundamentos. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica panamericana; 2003.
12. Cangul Keskin, Ozg Ozdemir IU and BG uler. Effect of intracanal cryotherapy on pain after single-visit root canal treatment. Aust Endod J. 2016;9–11.

13. Diaz FP. Dolor Tipos de dolor y escala terapéutica de la O . M . S . Dolor iatrogénico. :33–7.
14. Vera J, Ochoa J, Romero M, Vazquez-carca M, Ramos-gregorio CO, Aguilar RR, et al. Intracanal Cryotherapy Reduces Postoperative Pain in Teeth with Symptomatic Apical Clinical Trial. 2018;44(1).
15. 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 [Internet]. 2018;44(3):349–54. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.11.002>
16. Vera J, Ochoa-rivera J, Vazquez-carca M. Effect of Intracanal Cryotherapy on Reducing Root Surface Temperature. 2015;41(11):1884–7.
17. Espinoza Ñ, Bustamante IPL, Me SJ. Revision sistematica sobre el efecto analgesico de la crioterapia en el manejo del dolor de origen musculo esqueletico. Rev la Soc española del dolor. 2010;17(5):242–52.
18. Sandoval Ortiz MC. Efectos fisiológicos de la crioterapia. Rev Univ Ind Santander, Salud. 2007;59–70.
19. O MCS, V EH. Efecto de tres modalidades de crioterapia sobre la temperatura de la piel durante las fases de enfriamiento y recalentamiento. Esc Fisioter Fac Salud, Univ Ind Santander, Bucaramanga, Colomb. 2011;119–29.
20. Bazaid DS, Kenawi LMM. The Effect of Intracanal Cryotherapy in Reducing Postoperative Pain in Patients with Irreversible Pulpitis : A Randomized Control Trial. 2018;8(February):83–8.
21. Carolina SSS. Reducción térmica de la superficie radicular como parte del protocolo de irrigación endodóntico con y sin agitación sónica. Estudio in vitro. Univ Cent DEL ECUADOR Fac Odontol CARRERA Odontol Reducción. 2018;
22. Ahmed A, Hussian M, Naif M, Abdullah M, Abdulwahhab M. Effect of intra-canal cryotherapy on post- endodontic pain in single-visit RCT : A randomized controlled trial. Saudi Dent J [Internet]. 2019;31(3):330–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.03.004>

23. Talal Al-Nahlawi, Talaat Abo Hatab, Mahmoud Abd Alrazak AA-A. Effect of Intracanal Cryotherapy and Negative Irrigation Technique on Postendodontic Pain. *J Contemp Dent Pract.* 2016;990–6.
24. Núñez MAC. EFECTO DE LA CRIOTERAPIA EN EL PROCESO INFLAMATORIO DE TEJIDO CONECTIVO, IN SITU. Univ AUTÓNOMA BAJA Calif Fac Odontol. 2020;
25. Doubova V, Torres-Arreola L, Reyes H. Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos en la terapia del dolor. Orientación para su uso en el primer nivel de atención. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2006;44(6):565–72.
26. Robinson A. NON-STEROIDAL DRUGS ( NSAIDs ): Making safer treatment choices. *Ann Emerg Med.* 2016;2:8–19.
27. Garcia-pantoja, Ana, SASIA-Karen, AMARO-Osvaldo. Revista de Aplicación Científica y Técnica Revisión sistemática sobre los efectos de la crioterapia. Septiembre. 2015;1(1):66–72.
28. Malanga GA, Yan N, Stark J. Mechanisms and efficacy of heat and cold therapies for musculoskeletal injury. *Postgrad Med.* 2015;127(1):57–65.
29. Norma Monserrate Zambrano Chávez. USO DE LA CRIOTERAPIA COMO AGENTE REDUCTOR MOLARES, INFLAMACIÓN POSTQUIRÚRGICA DE TERCEROS. Univ DEGUAYAQUIL Fac Pilot Odontol. 2018;
30. Jutte LS, Merrick MA, Ingersoll CD, Edwards JE. The Relationship Between Intramuscular Temperature , Skin Temperature , and Adipose Thickness During Cryotherapy and Rewarming. 2001;82(June):845–50.
31. Rupp KA. Intramuscular Temperature Changes During and After 2 Different Cryotherapy Interventions in Healthy Individuals. 2012;42(8):731–7.
32. Bordés González, R., Martínez Beltrán, M., García Olivares, E., Guisado Barrilao R. EL PROCESO INFLAMATORIO. Univ Granada Dep Enfermería y Fisioter Esc Univ Ciencias la Salud. 2010;9–12.