



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS
PULPOPERIODONTALES ENTRE RATAS ADULTAS Y JÓVENES EN LA FASE
DE LATENCIA DEL MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO**

Alexandra Jiménez Armijo

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Dra. María Angélica Torres

Adscrito a Proyecto PRI-ODO 13/005

Santiago - Chile

2017



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS
PULPOPERIODONTALES ENTRE RATAS ADULTAS Y JÓVENES EN LA FASE
DE LATENCIA DEL MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNICO**

Alexandra Jiménez Armijo

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Dra. María Angélica Torres

Adscrito a Proyecto PRI-ODO 13/005

Santiago - Chile

2017

*A mi querida familia y amigos
que me han acompañado en esta etapa*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María Angélica Torres, por todos los conocimientos y consejos entregados, tanto académicos como de la vida. Por todo el apoyo y el tiempo dedicado con mucho cariño.

ÍNDICE

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
MARCO TEÓRICO	12
CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS DE LOS TEJIDOS PULPARES Y PERIODONTALES NORMALES	12
PULPA DENTARIA	12
PERIODONTO DE INSERCIÓN.....	18
MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO.....	27
LA RATA COMO MODELO DE ESTUDIO PARA MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO	32
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	35
HIPÓTESIS	35
OBJETIVO GENERAL	35
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
MATERIALES Y MÉTODOS	36
DISEÑO DEL ESTUDIO	36
ANIMALES.....	36
TRATAMIENTO ORTODÓNCICO	36
MEDICIONES PARA EL MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO	37
PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y ANÁLISIS HISTOMORFOMÉTRICO.....	38
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA EN FASE DE LATENCIA	43
ANÁLISIS DE LOS DATOS	44
RESULTADOS	45
COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS E HISTOMORFOMÉTRICAS PULPARES ENTRE RATAS JÓVENES Y ADULTAS	45
COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS E HISTOMORFOMÉTRICAS EN PERIODONTO DE INSERCIÓN ENTRE RATAS JÓVENES Y ADULTAS.....	54
LIGAMENTO PERIODONTAL	54
.....	63
SUPERFICIES DENTARIAS	64
HUESO ALVEOLAR	66
DISCUSIÓN	69
CAMBIOS PULPARES	70
CAMBIOS PERIODONTALES.....	73
CONCLUSIONES	80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ANEXOS	88
ANEXO 1: CERTIFICADO DE APROBACIÓN ÉTICA.....	88
ANEXO 2: CERTIFICADO DE INSCRIPCIÓN DE PROYECTO PRI-ODO 13/005 Y AUTORIZACIÓN DE EXTENSIÓN	89

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Se ha descrito una prolongación en las fases del movimiento dentario ortodóncico (MDO) en tejidos envejecidos por respuestas reparativas retardadas. Resulta importante describir los cambios morfológicos microscópicos ocurridos en fase de latencia del MDO para explicar las diferencias en las terapias ortodóncicas aplicadas en individuos jóvenes y adultos, ya que es en esta fase donde ocurre la remoción de las áreas necróticas y generalmente ningún movimiento posterior del diente acontece antes de ello. El propósito de este estudio es comparar entre ratas jóvenes y adultas los cambios histomorfológicos pulpoperiodontales en la fase de latencia del MDO. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Luego de un análisis del promedio diario de migración del primer molar y la cantidad de movimiento total entre 0 y 14 días se establece la fase de latencia entre los días 3 y 7. Se utilizaron hemimaxilas incluidas en parafina de 14 Ratas Sprague-Dawley macho, 6 jóvenes (16 semanas) y 8 adultas (46 semanas), que recibieron un resorte de Nitinol de 5 mm de largo (25cN), ubicado desde el primer molar izquierdo al incisivo maxilar, utilizando como control el lado sin aparato. Las ratas fueron sacrificadas a los días 3 y 7 por perfusión intracardiaca de fijador. los maxilares fueron procesados y teñidos con H&E, TRAP y α actina para analizar cambios morfológicos y morfométricos pulpoperiodontales bajo microscopía óptica. En microfotografías 400x (ImageJ) en una superficie estandarizada fueron analizadas características morfológicas en pulpa dentaria, hueso alveolar, ligamento periodontal y superficies dentarias. Se usó el test del signo de Wilcoxon, por la distribución no paramétrica de los datos (test de Swilk) para analizar las diferencias entre variables cuantitativas y test de diferencia de proporciones para cualitativas. **RESULTADOS:** En la fase de latencia del MDO existen diferencias estadísticamente significativas entre ratas jóvenes y adultas en las características pulpares: mayor número de vasos y menor número de células tipo fibroblastos en adultas, en LPD más zonas hialinas, macrófagos, osteoplastos, osteoclastos y resorción ósea en jóvenes. **CONCLUSIONES:** En fase de latencia las características morfológicas pulpares y periodontales son diferentes entre ratas jóvenes y adultas, lo que puede explicar la diferencia en la velocidad del MDO.

INTRODUCCIÓN

La ortodoncia es la especialidad de la odontología que incluye el diagnóstico, prevención, intercepción, la orientación y la corrección de maloclusiones (AAO, 2012). Sus orígenes se remontan al siglo VII a. de C. donde se han encontrado hallazgos etnográficos de aparatos ortodóncicos de magnífico diseño, derivados del mundo griego y etrusco (Wahl, 2005).

Ya sea por necesidad funcional o estética personal, la ortodoncia es hoy en día una de las especialidades más consultadas en odontología. Se estima que entre el 35% al 75% de la población mundial, presenta anomalías dentomaxilofaciales (García y cols., 2011), por lo que estas alteraciones constituyen un problema de salud pública desde el punto de vista odontológico.

El tratamiento de ortodoncia permite devolver una posición adecuada al sistema dentario en relación a sus bases, lo que facilita una buena higiene oral, reduce la incidencia de caries dentales y de enfermedad periodontal; permite una mejor función masticatoria, respiratoria y fonética a partir de una adaptación funcional saludable; además, mejores contactos oclusales se relacionan estrechamente con disminución de trastornos en la articulación temporomandibular (Palomares y cols., 2012).

La mayoría de los odontólogos considera un tratamiento ortodóncico exitoso basándose no solamente en los resultados estéticos, sino también en una oclusión funcional estable (Pachêco-Pereira y cols., 2015). Sin embargo, existe una gran variación en los resultados del tratamiento de ortodoncia, debido a la gravedad y al tipo de maloclusión, al enfoque del tratamiento, a la cooperación del paciente, y a la capacidad de respuesta y de adaptación de los tejidos duros y blandos a la aplicación de fuerzas externas (Bondemark y cols., 2007).

La motivación para solicitar un tratamiento de ortodoncia varía mucho entre los pacientes, generalmente en algunos niños no hay interés, en adolescentes habitualmente está en juego la influencia del medio en el cambio estético o en la moda mientras que las expectativas de los padres parecen estar basadas en la percepción de ventajas socio-ocupacionales y la mejora de la salud dental para sus niños (Pachêco-Pereira y cols., 2015).

Cada vez son más los pacientes adultos e incluso adultos mayores que buscan tratamiento de ortodoncia, no sólo por una necesidad de mejora estética, sino por indicación del rehabilitador, para mejorar el posicionamiento de los dientes pilares protésicos o mejorar la distribución de espacios en la arcada para la colocación de implantes (Pachêco-Pereira y cols., 2015).

Sin embargo, el escenario para un tratamiento de ortodoncia en un adulto parece muy diferente al de niños y adolescentes, donde los tejidos de soporte dentario tienen alto potencial regenerativo, libre de enfermedad periodontal severa (salvo en casos de periodontitis juvenil de avance rápido) y aun hay un remanente de crecimiento cráneo facial que generalmente determina el plan de tratamiento (De Harfin, 2005). Es poco lo que se conoce de los efectos de la aplicación de fuerzas en dientes soportados por tejidos más envejecidos, se describe en la literatura que existe una respuesta tisular a las fuerzas ortodóncicas mucho más lenta debido probablemente a una actividad celular disminuida y a que los tejidos se vuelven más ricos en colágeno (Hernández y Tavira, 2014).

El principio de la ortodoncia consiste en que al aplicar una fuerza sobre un diente, este se moviliza dentro de su alvéolo, gracias a la compresibilidad del ligamento periodontal, generando zonas de compresión y tensión en las paredes del alvéolo. El movimiento dental ortodóncico (MDO) se produce entonces por resorción ósea en el área de compresión y aposición ósea en el área de tensión (De Harfin, 2005).

Un estudio respecto a la cantidad de movimiento observado en humanos, indica que el MDO se compone de tres fases: una fase inicial, una fase de latencia y una fase de aceleración. La fase inicial se caracteriza por un movimiento inmediato y rápido y ocurre 24 a 48 horas después de la primera aplicación de fuerza al diente. Esta tasa de movimiento se atribuye en gran medida al desplazamiento del diente en el espacio del ligamento periodontal (LPD). La fase de latencia, con una duración aproximada de 20 a 30 días, muestra relativamente poco o ningún desplazamiento de los dientes. Algunos estudios han mostrado que en esta fase se produce una marcada hialinización por muerte celular y degradación de colágeno en el LPD en la región de compresión. No se produce ningún movimiento dentario hasta que las zonas necróticas no han sido eliminadas, donde los tejidos despliegan una serie de mecanismos propios de la

biología periodontal. La fase de aceleración sigue a la fase de latencia, durante la cual la tasa de movimiento aumenta para mantenerse lineal hasta que la fuerza se reduce (Zainal y cols., 2011).

De esto se entiende que, para que exista MDO, el tejido afectado por las fuerzas implementa una serie de mecanismos compensatorios que pueden verse afectados por el envejecimiento de estos tejidos. En general, se ha creído que el tratamiento ortodóncico tarda más en pacientes adultos que en niños. Sin embargo, hasta la fecha, la relación entre el envejecimiento y el MDO es todavía incierta (Misawa-Kageyama y cols., 2007). La duración total del tratamiento ortodóncico se vería influenciada no sólo por cambios biológicos tisulares, sino también por diferencias conductuales entre adultos y jóvenes; un mayor grado de cooperación y responsabilidad del paciente también jugarían un rol importante en la duración del tratamiento (Gazit y cols., 2010).

La reacción de los tejidos envejecidos frente a las fuerzas de MDO y su repercusión en el avance de los dientes para lograr su reposicionamiento, definitivamente no está clara en la literatura y tampoco hay evidencia suficiente que demuestre que las fuerzas de ortodoncia ponen en peligro a la pulpa dental humana en términos de reducción del flujo sanguíneo y alteraciones irreversibles pulpares. Algunos estudios demuestran que luego de un tratamiento ortodóncico en humanos con diferentes magnitudes de fuerza intrusivas, la pulpa dental sigue con vitalidad y no se observa necrosis (Han y cols., 2013), pero no hay suficiente evidencia de este proceso en movimientos laterales.

Aunque dientes envejecidos presentan un canal radicular y una cámara pulpar reducidos por el depósito de dentina secundaria y terciaria (Nanci, 2008; von Böhl y cols., 2016), algunos estudios del efecto en la pulpa dentaria del MDO por fuerzas livianas, han sugerido que las reacciones pulpares son reversibles y tienen un efecto sin larga duración sobre la fisiología de la pulpa con tendencia hacia una mayor vascularización (von Böhl y cols., 2016). Otros estudios en cambio indican que los antecedentes de trauma dental (bruxismos, desgates por caries o coronas) pueden ser considerados como un factor de riesgo para la pérdida de la vitalidad pulpar durante el tratamiento de ortodoncia (Javed y cols., 2015). Además, otro estudio indica que movimientos extrusivos en ortodoncia de dientes con daños severos en los tejidos periodontales aumentan el riesgo de

necrosis pulpar en comparación con movimientos extrusivos en dientes no traumatizados (Bauss y cols., 2010).

Así como es incierto el efecto de la edad en la respuesta pulpar por MDO, los tejidos periodontales por su parte sufren cambios importantes con el envejecimiento. Investigaciones en molares de ratas adultas han mostrado que las fibras de colágeno, principales responsables de las propiedades mecánicas del LPD, están más desorganizadas y su producción es reducida. Además, la actividad proliferativa de fibroblastos también se reduce con el envejecimiento (Ren y cols., 2008a). Se ha observado, que la tasa de formación de hueso disminuye de forma constante con la edad. Esta reducción puede ser causada por falta de proliferación de precursores de osteoblastos, o por disminución en la síntesis y la secreción de proteínas esenciales de la matriz ósea (Misawa y cols., 2007). También se ve reducida la tasa de remodelación ósea lo que afecta directamente disminuyendo la cantidad de movimiento dentario (Verna y Melsen, 2003).

Teniendo presente los antecedentes planteados respecto al MDO y la falta de estudios comparativos según edad, se desarrolla esta tesis enmarcada dentro de un proyecto mayor de investigación, Pri-ODO número 13/005 titulado “Influencia de la edad en los cambios histomorfológicos pulpoperiodontales después de movimiento dentario ortodóncico en ratas”, del Departamento Del Niño y Ortopedia Dentomaxilar y del Departamento de Patología y Medicina Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, el cual pretendió analizar las diferencias entre ratas jóvenes y adultas de los cambios pulpoperiodontales observados en el primer molar maxilar sometido a un MDO por 14 días. El análisis del micromovimiento diario en este modelo estableció una curva que coincide con las fases descritas en la literatura, observándose una fase inicial entre los días 0 y 2 de MDO; una fase de latencia entre los días 2 y 8 de MDO y una fase de aceleración entre los días 8 y 14. La reacción de los tejidos pulpo-periodontales en el marco de este proyecto fueron descritas en los trabajos de Contreras P. (2013) para la fase inicial y de Maureira L. (2010) para la fase de aceleración. El objetivo del presente estudio fue comparar entre ratas jóvenes y adultas los cambios histomorfológicos pulpares y periodontales en la fase de latencia del MDO, usando el mismo modelo.

Antes de presentar la metodología empleada para este estudio experimental en ratas, se presenta un marco teórico que desarrolla de forma detallada los temas más relevantes para este trabajo, tales como las características histomorfológicas normales de la pulpa dentaria y periodonto de inserción, características del MDO y la rata como modelo de estudio para el MDO.

MARCO TEÓRICO

CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS DE LOS TEJIDOS PULPARES Y PERIODONTALES NORMALES

PULPA DENTARIA

La pulpa dentaria es un tejido blando de origen mesenquimático, con células especializadas, los odontoblastos, dispuestos periféricamente en contacto directo con la matriz de la predentina y dentina. La relación biológica que se establece entre los Odontoblastos, el resto del tejido pulpar y los tejidos dentinarios es muy estrecha, considerándose como una unidad funcional denominado complejo pulpo-dentinario (Cohen y Burns, 2004)

Micro-estructuralmente la pulpa dental es un tejido conectivo laxo, ricamente vascularizado e innervado, constituido por células y una matriz extracelular (MEC) formada por agua (75%) y materia orgánica (25%) representada por fibras y sustancia fundamental amorfa (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Nanci, 2013). Anatómicamente se ubica en la zona coronal (pulpa cameral o coronal) y radicular (pulpa radicular) de los dientes, observándose que la pulpa coronal contiene más células, fibras, vasos sanguíneos y nervios pues el tejido es más extenso que en las raíces (Chiego, 2014).

Dada la disposición general de sus componentes estructurales, histológicamente se describen cuatro regiones diferentes desde la periferia al centro de la pulpa, siendo más evidentes en la pulpa cameral: 1) la zona o capa odontoblástica, 2) la zona acelular o capa subodontoblástica, 3) la zona rica en células y 4) la zona central o cuerpo de la pulpa (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Nanci, 2013).

La zona o capa odontoblástica es la más periférica y describe los cuerpos de los odontoblastos en una capa única, estrechamente unidos en empalizada. Inmediatamente bajo los odontoblastos se encuentran las denominadas, por algunos autores, células subodontoblásticas de Höhl, que proceden de la última división mitótica que da origen a los odontoblastos. La existencia de apoptosis ha sido descrita en odontoblastos y en las células de Höhl (Gómez de Ferraris y

Campos, 2002). La capa odontoblástica neta aparece más marcada en la pulpa coronal y se relaciona con el proceso de formación de dentina. En el área de las astas o cuernos pulpares, los odontoblastos están apiñados y aparecen en empalizada pseudoestratificada, en contraste con su aspecto en el resto del área coronal (Chiego, 2014).

La zona basal, acelular u oligocelular de Weil, situada por debajo de la capa odontoblástica hacia el centro de la pulpa, presenta aproximadamente 40 μm de ancho y se la identifica como una zona pobre en células. Está, en general, bien definida en la región coronaria de los dientes recién erupcionados, pero suele estar ausente en la región radicular. En pulpas maduras la capa oligocelular alcanza un espesor de 60 μm . Asimismo a este nivel se encuentran las células dendríticas activas de la pulpa (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La zona rica en células se caracteriza por su alta densidad celular, donde se destacan las células ectomesenquimáticas o células madre de la pulpa y los fibroblastos que originan las fibras de Von Korff. Esta zona rica en células es especialmente prominente en dientes adultos, los cuales poseen un menor número de células en su parte central (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La zona central o cuerpo de la pulpa está formada por el tejido conectivo laxo característico de la pulpa, con sus distintos tipos celulares, escasas fibras inmersas en la matriz extracelular amorfa y abundantes vasos y nervios. La población celular está representada esencialmente por fibroblastos, células ectomesenquimáticas y macrófagos de localización perivascular. Existen también células dendríticas activas de la pulpa que generalmente migran hacia los vasos. Proporcionalmente tiene menor cantidad de células por unidad de superficie que la zona rica en células (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Al examinar los componentes celulares de la pulpa normal humana, se pueden identificar: odontoblastos, células gliales, células madres ectomesenquimáticas, fibroblastos, células dendríticas, macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y, en ocasiones, eosinófilos y mastocitos. La existencia de estas últimas células es muy evidente en los procesos inflamatorios (Gómez de Ferraris y Campos, 2002). Además, pueden visualizarse células endoteliales que tapizan los capilares, venas y arterias de la pulpa. Acompañando a la mayoría de

los vasos sanguíneos en la pulpa normal se encuentran pericitos y células perivasculares y dentro de los vasos sanguíneos de la pulpa se encuentran eritrocitos, leucocitos, eosinófilos y basófilos (Chiego, 2014).

Los Odontoblastos, son las células específicas del tejido pulpar, situadas en su periferia y adyacentes 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. En la región coronaria, el número de odontoblastos ha sido estimado en el rango de 59.000 a 76.000 por mm^2 disminuyendo su número sensiblemente en la zona radicular. En la corona del diente completamente desarrollado, los cuerpos celulares de los odontoblastos son columnares o cilíndricos y tienen unos 50 μm de longitud en las astas o cuernos pulpares (Chiego, 2014), reduciendo su tamaño hacia la raíz, siendo más cúbicos en la porción media de la pulpa y en la región apical más aplanados (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Nanci, 2013). Los odontoblastos son además, células receptoras sensoriales para detectar la fuerza/presión dentro de los túbulos dentinarios a través de receptores de potenciales transitorios (transient receptor potential: TRP) en su membrana. Estos receptores son una superfamilia de canales iónicos que funcionan como transductores moleculares de estímulos térmicos, son sensibles a la mecánica y liberan ATP como neurotransmisor para activar receptores ATP (P2X), en neuronas de la pulpa dental, impulsando la secuencia de transducción sensorial (Tokuda y cols., 2015). Los odontoblastos también están asociados con células gliales, incluyendo telocitos, astrocitos y microglías, y una microcirculación análoga a la de otros sistemas de barrera sanguínea (Farahani y cols., 2011).

Las **células gliales** son células sustentaculares importantes tanto en el sistema nervioso central como en los órganos sensoriales periféricos. La evidencia reciente indica que las células gliales son esenciales para el desarrollo y la función de los órganos sensoriales (Farahani y cols., 2011). Los telocitos son células gliales en forma de estrella con un perfil de expresión génica análogo a los astrocitos. Las células microgliales (MHC-II^+) que llevan marcadores microgliales del sistema nervioso central (SNC), también se encuentran en la zona subodontoblástica de la pulpa dental humana, en relación al plexo vasculo-nervioso conformando una estructura neurosensorial típica. Este "órgano

neurosensorial” estaría conformado por: los odontoblastos como célula sensorial, tres poblaciones gliales principales (seracitos, telacitos y alacitos) y el sistema de barrera sanguíneo hacia la zona rica en células (Farahani y cols., 2011). Las células nerviosas de la pulpa incluyen también a las **células de Schwann**. Estas células forman la vaina de mielina de los nervios y se asocian a todos los nervios pulpares (Chiego, 2014).

Con respecto a las **células madres ectomesenquimáticas** (SHED y DPSC) (Miura y cols., 2003, Gronthos y cols., 2000) de la pulpa, se ha reportado que estas células pueden formar estructuras que parecen complejos pulpa-dentina al ser trasplantadas subcutáneamente en ratones inmunocomprometidos. Asimismo, estas células madre son capaces de estimular la nueva formación de hueso, por lo que tienen una posible aplicación en regeneración ósea craneofacial. Estos y otros datos experimentales, resaltan el potencial de las células madre para lograr la regeneración de tejidos dentarios humanos *in vivo* (Magallanes y cols., 2010), así como otras numerosas **células indiferenciadas** que funcionan como una reserva celular y son puestas en acción cuando son necesarios nuevos odontoblastos o fibroblastos. Estas células madre de pulpa dental representan además, una fuente fácilmente accesible de células madre adultas, ya que pueden ser aisladas de dientes extraídos. Las propiedades proliferativas e inmunomoduladoras de estas células son más pronunciadas comparadas con las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea, lo que refuerza su potencial terapéutico. Su origen de la cresta neural ha desencadenado una extensa investigación sobre el potencial de diferenciación neurogénico de las células madre. Recientemente, Sanen y cols., describieron la diferenciación *in vitro* de células madre pulpares humanas hacia células de tipo Schwann (Sanen y cols., 2017).

Los **fibroblastos** son las células más numerosas de la pulpa, ya que se localizan en toda su extensión. Son particularmente numerosas en la pulpa coronal, donde forman parte de la zona rica en células (Nanci, 2013). En la pulpa joven los fibroblastos producen fibras de colágeno y sustancia fundamental. Con la edad estas células se muestran más pequeñas, fusiformes y con pocos organelos (Chiego, 2014).

Las células dendríticas pulpares son elementos accesorios del sistema inmune. Se denominan células presentadoras de antígeno, y se caracterizan por prolongaciones citoplasmáticas dendríticas y presencia de antígenos clase II en la superficie celular, desempeñando una función central en la inducción de la inmunidad dependiente de células T. En su forma inactiva se localizan cercanas a los odontoblastos, en su forma activa se localizan cercanas a los vasos sanguíneos pulpares (Cohen y Burns, 2004).

Los macrófagos, constituyentes normales de la pulpa, actúan en el mantenimiento normal del tejido, fagocitando células muertas y participando activamente en respuestas defensivas pulpares (Chiego, 2014).

Los linfocitos se encuentran en los espacios libres de pulpa. Tanto linfocitos B como T confieren una capacidad inmunitaria a la pulpa (Chiego, 2014).

En la matriz extracelular que rodea las células existen **fibras de colágeno**. En la pulpa se han encontrado los tipos I y III de colágeno. El tipo I está producido por los odontoblastos, ya que este es el tipo de colágeno que se encuentra en la dentina, el tejido que producen los odontoblastos. El tipo III está producido por los fibroblastos pulpares para el mantenimiento de la pulpa misma. En la pulpa joven las fibras están relativamente dispersas, por lo que el tejido tiene un aspecto laxo. Alrededor de las fibras, está la **sustancia fundamental** de la pulpa. Esta sustancia es el ambiente que proporciona la vida para las células de la pulpa. Si se irrita la pulpa, las fibras pueden acumularse rápidamente. Sin embargo, la pulpa de una persona mayor contiene más colágeno tanto en forma de haces como del tipo difuso. El colágeno tipo IV está presente en la pulpa, asociado con la membrana basal que rodea los vasos sanguíneos. También existen otros tipos de colágeno, pero en pequeñas cantidades y no están bien caracterizados (Chiego, 2014).

El órgano pulpar está **altamente vascularizado e innervado**. Los vasos sanguíneos entran y salen de la pulpa por el foramen apical y las foraminas accesorias. Una o dos arterias de finas paredes, de diámetro entre 50-100 μm entran al foramen apical (Nanci, 2013). Estas arterias siguen un trayecto directo desde la pulpa radicular hacia el área coronal, emitiendo colaterales y reduciendo su diámetro a 20-30 μm con una única capa de células musculares y las arteriolas

terminales de 10-15 μm de diámetro. En la pulpa cameral periférica se encuentran precapilares de 8-12 μm de diámetro y capilares de 8-10 μm de diámetro formando un verdadero plexo periférico bajo la capa de odontoblastos (Chiego, 2014). La pulpa dental además, está innervada por fibras nerviosas sensitivas procedentes del nervio trigémino y fibras simpáticas postganglionares derivadas del ganglio cervical superior, mientras que la innervación parasimpática probablemente no está presente dentro de ella pero no puede ser excluida (Zmijewska y cols., 2003). Las fibras nerviosas sensitivas en la pulpa dental en su mayoría, median las sensaciones dolorosas y térmicas. Los análisis del desarrollo de la innervación sensorial en diferentes especies han demostrado que las fibras nerviosas del trigémino se encuentran junto a los gérmenes del molar en desarrollo desde la etapa de yema o botón hacia adelante, pero que entran por primera vez en la pulpa dental de los molares después de que la corona está formada en gran medida y una delgada capa de esmalte y dentina se ha establecido (Moe y cols., 2008). En la pulpa existen dos tipos de fibras nerviosas sensoriales: mielínicas (fibras A) y amielínicas (fibras C). Los nervios sensoriales entran en la pulpa radicular como fascículos, a través del foramen apical, en asociación íntima con las arteriolas y vénulas, luego cursan hacia arriba llegando a la pulpa coronal y se abren en abanico bajo la zona rica en células, se dividen para formar fascículos pequeños y, finalmente, se ramifican en un plexo de axones nerviosos únicos, conocido como plexo de Raschkow. En el plexo, las fibras A emergen de sus vainas de mielina y se ramifican repetidamente para formar el plexo subodontoblástico. Por último, los axones terminales salen de su revestimiento de células de Schwann y cursan entre los odontoblastos como terminaciones nerviosas libres. Cada uno de los nervios que entran están rodeados por células de Schwann, y las fibras A adquieren su vaina de mielina desde esas células. Cuando se completa el desarrollo radicular, las fibras mielínicas aparecen agrupadas en fascículos en la región central de la pulpa. La mayor parte de las fibras C que entran en la pulpa se localizan en esos fascículos; las restantes están situadas en la periferia de la pulpa (Cohen y Burns, 2004)

La pulpa dentaria sufre cambios estructurales con **el envejecimiento** dentario. La pulpa disminuye de tamaño debido al depósito continuo de dentina

(Chiego, 2014). Barrios y cols., 2011, encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$), al comparar las pulpas dentales de dientes provenientes de personas jóvenes con respecto a las obtenidas a partir de dientes de pacientes ancianos, en cuanto al espesor (μm) de las capas odontoblástica, la capa acelular, celular y la densidad de la capa odontoblástica (células/ $1.000\mu\text{m}^2$), observándose un promedio mayor en las pulpas dentales de personas jóvenes. No se encontró diferencia en cuanto a la densidad celular de la capa celular. En la zona central de la pulpa dental, la cantidad y el calibre (μm) de vasos sanguíneos, resultaron ser mayores en el tejido pulpar obtenido de dientes de personas jóvenes con respecto al de personas ancianas. Por otro lado, se evidenció un predominio en el promedio de la densidad de fibroblastos (células/ $1.000\mu\text{m}^2$), densidad de fibras de colágeno (fibras/ $1.000\mu\text{m}^2$) y de calcificaciones en la zona central de la pulpa dental en las muestras obtenidas del tejido pulpar de personas ancianas, al compararlas con las extraídas de personas más jóvenes (Barrios y cols., 2011). Se han descrito además obliteraciones de vasos sanguíneos en pulpas envejecidas; transformación progresiva del tejido conectivo laxo de la pulpa, en tejido conectivo semidenso. Ello se debe al aumento de fibras colágenas y a la consiguiente disminución de la sustancia fundamental amorfa. Estos cambios ocasionan una disminución en la capacidad de respuesta biológica y como consecuencia de ello, el tejido pulpar con la edad no responde a los estímulos externos como lo hace una pulpa joven (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

PERIODONTO DE INSERCIÓN

El periodonto de inserción está compuesto por tres estructuras que conforman una unidad funcional y comparten un mismo origen embriológico: **ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar**. Los tres se originan, durante el proceso de rizogénesis, a partir del saco dentario o folicular (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Las fibras colágenas del ligamento periodontal se insertan por un lado en el cemento y por el otro en el hueso que rodea el alvéolo, constituyendo la articulación alvéolo dentaria. Esta articulación mantiene al diente en su sitio y le permite resistir las fuerzas masticatorias (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Las estructuras que forman el periodonto de inserción, tienen una evolución correlativa a lo largo de la vida del diente, ya que la remodelación permanente de las fibras periodontales y del tejido óseo, así como la aposición continuada y selectiva del cemento, se relacionan con los movimientos de acomodación y desplazamiento de los dientes. Las tres estructuras del periodonto de inserción constituyen una unidad funcional y evolucionan interrelacionada y coordinadamente durante la vida del diente (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

LIGAMENTO PERIODONTAL

El ligamento periodontal (LPD) es un tejido conectivo altamente especializado localizado entre el cemento que cubre la raíz del diente y el hueso alveolar (Papadopoulou y cols., 2016). Conecta el cemento con el hueso alveolar mediante haces de colágeno tipo I y las denominados fibras de Sharpey correspondientes al colágeno atrapado en la matriz mineralizada tanto del hueso como del cemento (Henneman y cols., 2008). Es un tejido con una alta capacidad adaptativa, su grosor disminuye con la edad (0,2 mm en jóvenes y 0,15 en mayores de 50 años), pero puede aumentar con la función masticatoria, siendo más grueso en dientes con hiperfunción y más delgado en dientes retenidos o no funcionales. Se relaciona con el tejido conectivo pulpar, por el ápice y por la parte media radicular, donde el cemento de inserción es más delgado y la dentina presenta canalículos accesorios en directa relación con la capa granular de la periferia de la dentina radicular, porosa y con espacios llenos de matriz orgánica sin mineralizar. Se comunica ampliamente con los espacios medulares a través de las aberturas que deja el hueso alveolar. Hacia la zona cervical del diente, el LPD se relaciona directamente con el tejido conectivo de la mucosa gingival (Chiego, 2014; Jiang y cols., 2016). El LPD tiene dos funciones principales: 1) transmitir y absorber tensiones mecánicas, y 2) proporcionar suministro vascular y nutrientes al cemento, hueso alveolar y el propio LPD (Jiang y cols., 2016).

El LPD ocupa el espacio periodontal e histológicamente corresponde a un tejido conectivo denso irregular altamente irrigado e inervado, con células y, una MEC constituida principalmente por paquetes de fibras colágenas de tipos I y III (80%) y por fibras elásticas inmaduras (oxitalánicas y elaunínicas) en menor proporción (20%) en los humanos, embebidas en sustancia fundamental, la cual

contiene agua (70%), glicoproteínas (principalmente fibronectina), proteoglicanos y glicosaminoglicanos (Romanos y Bernimoulin, 1990). Esta matriz fibrilar está organizada en fascículos de fibras de colágenos orientadas de formas específicas (Chiego, 2014).

Las células del LPD incluyen fibroblastos, células ectomesenquimales indiferenciadas, restos epiteliales de Malassez, cementoblastos, osteoblastos, osteoclastos, macrófagos y otras células defensivas como plasmocitos, leucocitos y mastocitos (las cuales aumentan en situaciones de injuria) (Nanci, 2013).

Los **fibroblastos** periodontales (FP) son las células más abundantes en el LPD, debido a la alta densidad de colágeno de este tejido. La abundancia de FP permite una rápida sustitución de fibras. Investigaciones recientes muestran que los FP, además de formar nuevas fibras de colágeno, actúan en la degradación de las fibras deterioradas (Chiego, 2014). Los FP también responden al estrés mecánico de la matriz, gracias a la transducción a partir de integrinas que unen al FP a la matriz extracelular. Son capaces de diferenciar osteoblastos, contribuyendo a varios procesos, incluyendo reparación y regeneración, así como a la remodelación del tejido duro circundante (Papadopoulou y cols., 2016).

Las células indiferenciadas son las células progenitoras multipotentes del LPD, células madres o “stem cells”. En dientes adultos tienen una localización generalmente perivascular y reciben el nombre de células madres del ligamento periodontal (Dental Ligament Stem Cells o PDLSC) (Seo y cols., 2004) y en dientes jóvenes con el ápice en vías de formación se han descrito además las células madres de la papila apical (Stem Cells of Apical Papilla o SCAP) (Sonoyama y cols., 2008). Estas células muestran marcadores de superficie y potencial de diferenciación similar a las células del estroma de la médula ósea (Filshie y cols., 1998). Ellas constituyen una fuente de nuevas células para el LPD pudiendo originar adipocitos, fibroblastos, osteoblastos y cementoblastos cuando son estimuladas apropiadamente, y así mantener el equilibrio y reemplazar a las células que migran o que mueren por apoptosis (Seo y cols., 2004; Trubiani y cols., 2008). Algunas investigaciones, con estas células criopreservadas a partir de dientes extraídos, han demostrado que ellas conservan el potencial de diferenciación y podrían resultar útiles para aplicaciones terapéuticas clínicamente

relevantes en el futuro (Simon y cols., 2011; Yen y cols., 2011; Bartoldy cols., 2015).

Los **macrófagos** se encuentran en el LPD y son importantes células de defensa en esta localización. Los macrófagos tienen movilidad, así como actividad fagocitaria. Pueden captar células muertas, bacterias y cuerpos extraños. Algunos fibroblastos se convierten en macrófagos debido a que tienen la capacidad de destruir el colágeno, así como de formarlo. Esta actividad se relaciona con la alta actividad metabólica del ligamento periodontal. Macrófagos, linfocitos, leucocitos y células plasmáticas pueden también aparecer en el periodonto cuando está estresado por enfermedad (Chiego, 2014).

Los **restos epiteliales** son grupos de células epiteliales ubicadas muy cerca de la superficie del cemento. Históricamente han sido considerados restos o vestigios de la vaina radicular de Hertwig y se les atribuye el origen de quistes y tumores odontogénicos (Lin y cols., 2007). Sin embargo, estas células al ser estimuladas en cultivo o por inflamación en el LPD, demuestran grandes cambios bioquímicos y ultraestructurales. Una característica notable de estas células es que persisten dentro de una matriz mesenquimal durante toda la vida postnatal, mientras otras células epiteliales en otros tejidos se organizan como una capa separada de los tejidos conectivos subyacentes por una lámina basal. La persistencia de los restos epiteliales de Malassez en el periodonto de adultos, sugiere que podrían representar más que una estructura vestigial y desempeñar papeles funcionales en apoyo del diente. Algunos estudios han mostrado que los restos epiteliales de Malassez intervienen en la mantención de la homeostasia del LPD, evitando la anquilosis y la mantención del espacio periodontal del ligamento en coacción con los FP. Ellos también actuarían inhibiendo la resorción radicular, servirían como un objetivo durante la inervación del LPD y contribuirían a la reparación de cemento. Más importante aún, se ha reportado que los restos epiteliales de Malassez albergan poblaciones de células madre epiteliales clonogénicas que muestran propiedades similares a las células madre mesenquimales/estromales, tanto funcional como fenotípicamente y podrían desempeñar un papel fundamental en la regeneración periodontal (Rincon y cols., 2006; Keinan y Cohen, 2013; Xiong y cols., 2013).

El **tejido intercelular** rodea y protege las células del LPD y es el producto de estas células. Esta MEC está compuesta de agua, glucoproteínas y proteoglicanos, que rodean a las fibras de colágeno (Chiego, 2014).

El **envejecimiento del LPD** se manifiesta con una reducción en el número y actividad celular. En el cemento y el hueso alveolar envejecidos aparecen ondulaciones. Algunas fibras están unidas a las crestas de estas ondas en lugar de estarlo sobre toda la superficie. Este es uno de los cambios más remarcables que ocurren en el envejecimiento de las estructuras de soporte de los dientes (Chiego, 2014). La densidad de fibroblastos en el tejido del LPD humano fisiológico disminuye con la edad, causando así un retraso inicial en los procesos fisiológicos, patológicos o inducidos externamente que requieren remodelación del LPD, como la oclusión traumática, movimientos dentales ortodóncicos, etc. (Krieger y cols., 2013). En el periodonto, alteraciones relacionadas con la edad, no se manifiestan inevitablemente como la pérdida de inserción al sondaje o de hueso alveolar. De hecho, los datos sugieren que los sujetos que son clínicamente sanos desde una perspectiva periodontal pueden tener un aumento continuo en la distancia entre el nivel de hueso alveolar y la unión cemento-esmalte hasta aproximadamente los 50 años, sin aumento adicional en esta distancia a partir de entonces (Persson R. y Persson G., 2005).

CEMENTO DENTARIO

El cemento dental es un tejido mineralizado similar al hueso, aunque es avascular secretado por cementoblastos en la superficie de la dentina radicular o, en algunos animales, sobre el esmalte de la corona (Diekwisch, 2001). El cemento es derivado de la capa celular ectomesenquimática del saco o folículo dentario que rodea al germen dentario (Nanci, 2013). Tiene como función principal anclar las fibras del ligamento periodontal a la raíz del diente (Gómez de Ferraris y Campos, 2002) y su presencia es fundamental para el desarrollo de la gonfosis que une el diente al alvéolo, la mantención del ligamento periodontal y para prevenir la anquilosis.

Desde el punto de vista estructural, el cemento es comparable al hueso ya que su dureza y composición química son similares; además, crece por aposición, posee laminillas, y, cuando el cemento presenta células, estas se alojan en

lagunas, como los osteocitos. Ambos tejidos proporcionan un sitio de anclaje o inserción a las fibras periodontales. Una diferencia es que el cemento no tiene la vascularización ni la inervación característica del hueso. Como resultado, presenta falta de sensibilidad nerviosa y una mayor capacidad que el hueso para resistir la resorción, características clínicas importantes, puesto que si fuera resorbido fácilmente, la aplicación de técnicas ortodóncicas ocasionaría la pérdida de la raíz (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Chiego, 2014).

El cemento está formado por elementos celulares, en especial los cementoblastos y cementocitos y por una matriz extracelular calcificada.

Los **cementoblastos** se encuentran adosados a la superficie del cemento del lado del ligamento periodontal (zona cementógena del periodonto). Este se está formando constantemente a medida que nuevas fibras extrínsecas quedan incluidas a lo largo de toda la superficie de la raíz (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Chiego, 2014). Una vez que los cementoblastos quedan incluidos en el cemento mineralizado se les denomina **cementocitos**. Estos se alojan en cavidades denominadas cementoplastos o lagunas de cementocitos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

A menudo pueden observarse amplias cavidades de contornos irregulares que contienen varios cementocitos, o bien, varias células sin prolongaciones que son **restos epiteliales**, provenientes de la disgregación de la vaina de Hertwig. Estas formaciones se conocen con el nombre de **lagunas encapsuladas**. Otro tipo de células que pueden hallarse en relación con el cemento son los **cementoclastos** u **odontoclastos**, los cuales tienen la capacidad de resorción de los tejidos duros. Se localizan en la proximidad de la superficie externa cementaria y presentan características comparables a los osteoclastos. En condiciones normales, estas células están ausentes puesto que el cemento no se remodela. No obstante, los cementoclastos aparecen en ciertas patologías, como también durante la resorción radicular de los dientes deciduos o en casos de excesivo MDO, especialmente cuando se utilizan aparatos fijos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Se han descrito diferentes **tipos de cemento**, uno de ellos es el **acelular o primario** que se desarrolla lentamente mientras el diente está erupcionando. Es considerado acelular porque las células que lo forman se mantienen en la

superficie (Nanci, 2008), por lo que, los cementoblastos retroceden a medida que secretan, y no quedan células dentro del tejido. Se presenta predominantemente en el tercio cervical, pero puede cubrir la raíz entera con una capa muy delgada, de unos 50 μm , adyacente a la dentina. A menudo suele faltar en el tercio apical, y, en ese caso, sólo se encuentra en dicha región cemento celular. El cemento primario consiste principalmente en haces de fibras altamente mineralizadas. Predominan las fibras extrínsecas, que resultan prácticamente indistinguibles de las fibras intrínsecas dispuestas apretadamente entre ellas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Luego podemos encontrar el **cemento celular o secundario** que comienza a depositarse cuando al menos la mitad de la raíz está formada, siendo una variedad de cemento con formación más rápida y menos mineralizado (Nanci, 2013). Debido a que se forma con mayor rapidez, algunos cementoblastos quedan incluidos en la matriz, transformándose en cementocitos. El cemento celular se localiza, por lo general, sólo a partir del tercio medio o apical de la raíz. En el tercio apical suele ser el único tipo de cemento presente. En un diente adulto, el espesor del cemento celular es mayor en el ápice y en la zona interradicular. A diferencia del cemento acelular, posee mayor proporción de fibras intrínsecas. Estas representan el 60% del colágeno de la matriz. Los haces que forman el sistema de fibras extrínsecas están separados y rodeados por el sistema de fibras intrínsecas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Por último está el **cemento afibrilar** que corresponde a una variedad que carece de las típicas fibras de colágenos y que se presenta con cierta frecuencia en el cuello, especialmente en los casos en que el cemento se extiende cubriendo por un breve trecho al esmalte (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

HUESO ALVEOLAR

A la observación microscópica, el hueso compacto o denso que reviste el alvéolo dentario es de dos tipos: contiene fibras perforantes del ligamento periodontal o es similar al hueso compacto que se encuentra en otras partes del organismo. Las fibras perforantes o fibras de Sharpey son haces de fibras de colágeno incluidas en el hueso alveolar propiamente dicho. Estas fibras se encuentran perpendiculares u oblicuas a la superficie del hueso alveolar y a lo

largo de la raíz del diente. Los haces de fibras que se insertan en el hueso están espaciados regularmente y su aspecto es similar al de los que se insertan en el interior del cemento de la superficie de la raíz (Chiego, 2014).

La porción del hueso alveolar que limita directamente al alvéolo, o sea aquella en la que se insertan las fibras periodontales, pertenece al periodonto de inserción, junto con el cemento y el LPD (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

El tejido óseo es una variedad de tejido conectivo, constituido por células y MEC. Contiene un 60% de hidroxapatita, 20% de agua y 20% de componentes orgánicos. La rigidez y la dureza del tejido óseo están determinadas por la presencia de los constituyentes inorgánicos o minerales, en tanto que los componentes orgánicos y el agua le confieren un cierto grado de elasticidad y resistencia a las fracturas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Alrededor del 90% de la matriz orgánica está constituida por colágeno tipo I. Las **fibras colágenas**, componente principal de la matriz ósea, se disponen siguiendo las líneas de fuerzas tensionales, por ello el hueso es muy resistente a la tensión. También contiene pequeñas proporciones de colágeno tipo III y IV. El 10% restante está constituido por sustancias no colágenas. Las sustancias de naturaleza no colágenas más características de la MEC, son básicamente tres: glicoproteínas, proteínas que contienen ácido gamma carboxi-glutámico y proteoglicanos. Entre los componentes minerales del tejido, el 80% corresponde a cristales de hidroxapatita; el 15% a carbonato de calcio y el 5% a otras sales minerales (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Múltiples tipos celulares son responsables de la homeostasis y las funciones del hueso alveolar. Los tipos celulares más evidentes son osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Sin embargo, otros tipos celulares son también importantes, incluyendo células endoteliales que forman el revestimiento de vasos sanguíneos y células inmunes competentes tales como macrófagos (Jiang y cols., 2016).

Las **células osteoprogenitoras** pueden ser los preosteoblastos y los preosteoclastos. Los primeros proceden de células mesenquimáticas indiferenciadas y se localizan en el tejido conectivo que forma el periostio, el endostio y el tejido conectivo perivascular. Estas células dan origen a los osteoblastos y osteocitos. Los preosteoclastos que derivan de los monocitos o de

sus precursores y dan origen a los osteoclastos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Los **osteoblastos** son células mononucleadas encargadas de la síntesis, secreción y mineralización de la matriz orgánica, algunos de estos constituyentes primero se acumulan como una matriz no calcificada llamada osteoide, compuesta principalmente por colágeno que luego actuará como un andamiaje para la deposición de cristales de apatita del hueso (Nanci, 2013).

Mientras los osteoblastos forman el hueso, algunos se quedan atrapados en la matriz que ellos secretan estando o no mineralizado; estas células reciben el nombre de **osteocitos**. El número de osteoblastos que se convierten en osteocitos depende de qué tan rápida es la formación del hueso: mientras más rápido se forma, hay más osteocitos presentes. Las cavidades que los alojan se denominan **osteoplastos** u osteoceles (Nanci, 2013).

Los **osteoclastos** son las células encargadas de degradar la matriz, o sea, de producir la resorción ósea. Pueden encontrarse en cualquier área superficial del tejido óseo alveolar: en la superficie periodontal, perióstica o de las trabéculas. A medida que se produce la resorción u osteólisis, los osteoclastos van excavando la superficie del tejido óseo, formando unas cavidades que se conocen como lagunas de Howship. Cuando los osteoclastos se retiran, esas lagunas son invadidas por osteoblastos, que forman nuevo tejido óseo. Se completa así el proceso de recambio o remodelado (resorción-neoformación), proceso que posibilita la permanente renovación del tejido óseo y la adaptación a las fuerzas que se ejercen sobre él (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Las **células bordeantes óseas** son células fusiformes y aplanadas que revisten la matriz ósea en aquellos lugares en los que esta ni se forma por los osteoblastos ni se destruye por los osteoclastos. Las células bordeantes óseas se originan al igual que el osteocito a partir del osteoblasto cuando este finaliza su actividad funcional (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

El envejecimiento produce la pérdida de hueso, con menos haces de fibras insertadas en el hueso y el cemento. Alrededor de estas fibras se forma tejido duro para el soporte de estos haces, creando así una superficie ondulada. Durante el envejecimiento hay menos células activas en las lagunas (Chiego, 2014).

Para los tratamientos ortodóncicos, los ortodoncistas aprovechan la importante plasticidad que ofrece el hueso alveolar. Los movimientos ortodóncicos generan, en este sentido, presiones que repercuten en el tejido óseo causando resorción, mientras que se produce aposición ósea en el lado opuesto, donde actúa la tensión. De esta forma, el ortodoncista mueve los dientes sin alterar su relación con el hueso alveolar. La fase inicial del tratamiento, en especial cuando la fuerza mecánica aplicada es continua, da lugar a movimientos y desplazamientos de los fluidos tisulares en el LPD. Ello da origen en primer lugar a una distorsión gradual de la matriz extracelular y de las células, lo que altera la actividad de los canales iónicos y la polaridad de las membranas de las distintas células de la región. Como consecuencia, las terminaciones nerviosas del ligamento periodontal liberan sustancia P y VIP (polipéptido intestinal vasoactivo) que incrementan la permeabilidad capilar y favorecen la extravasación de leucocitos y la secreción de citoquinas y factores de crecimiento como la IL-1, IL-6, TNF- α o INF- β , que estimulan la remodelación ósea. Las fuerzas ortodóncicas originan también un daño tisular que consiste en alteraciones vasculares con ruptura y extravasación de células sanguíneas y plaquetas que liberan citoquinas y, sobre todo el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), que activa la proliferación celular y también la remodelación ósea. Las consecuencias de la aplicación de las fuerzas ortodóncicas conducen, en tercer lugar, al estímulo de las células de la médula ósea del hueso alveolar y a la producción de osteoclastos a partir de las células progenitoras de los monocitos. Estas células pueden migrar hasta el LPD a través de canales que comunican este con los espacios medulares del hueso alveolar (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO

Usualmente, el objetivo del tratamiento ortodóncico es producir una oclusión normal o también llamada ideal que es morfológicamente estable y estética, y funcionalmente bien ajustada. Sin embargo, existe una gran variación en el resultado del tratamiento debido a la gravedad y el tipo de maloclusión, el abordaje del tratamiento, la cooperación del paciente y el crecimiento y adaptabilidad de los tejidos blandos y duros (Bondemark y cols., 2007).

En la respuesta tisular al estímulo ortodóncico, varios tejidos se ven contemporáneamente afectados, esto implica una serie de reacciones celulares y la intervención de múltiples factores que pueden modificar el éxito y las expectativas de la terapia. La edad, la presencia de enfermedades óseas y el consumo de fármacos que puedan afectar el metabolismo óseo, son factores del paciente que pueden alterar la efectividad del tratamiento. Finalmente, están todos aquellos factores externos, que han sido ampliamente investigados tanto en modelos animales como en estudios clínicos con el fin de favorecer o limitar ciertos movimientos dentarios. La mecánica propia al tratamiento, esto es, la magnitud y dirección de las fuerzas aplicadas, deben ser cuidadosamente evaluadas y manejadas por el clínico (Vargas y cols., 2010). Estas cargas mecánicas estimulan las células dentro del tejido óseo alrededor del diente y estas respuestas celulares conducen a la resorción ósea en el lado del diente donde se ha aplicado la presión y la deposición ósea en el lado del diente experimentando tensión (Murshid, 2017).

Este movimiento producido por ortodoncia sólo es posible si la resorción ósea se produce en la dirección en la que el diente está siendo desplazado. Estas tensiones provocan la activación de células y cambios en los tejidos vascular y nervioso a lo largo de las superficies ósea y cementaria que están mediados a través del LPD. El hueso alveolar y el cemento muestran una remarcable capacidad de modificación. A medida que se produce la resorción ósea en una superficie de la lámina dura, o revestimiento óseo del alvéolo, el diente puede moverse en esa dirección y consiguientemente se forma hueso en el lado opuesto del alvéolo, lo que estabiliza al diente en una nueva posición (Chiego, 2014).

La presión aplicada sobre un punto específico del diente causa compresión en un área limitada entre la raíz y el hueso. No obstante, un diente puede requerir para su movilización, de un movimiento de traslación en masa, en cuyo caso la raíz es desplazada en la misma dirección, afectando a toda la superficie del alvéolo. En el LPD ocurren cambios de compresión a lo largo de la superficie de avance de la raíz, mientras que aparecen cambios de tensión en las fibras de ligamento, hueso y cemento a lo largo de la superficie opuesta (Chiego, 2014).

La **región de compresión** es un área que es presionada por el aparato ortodóncico en la dirección de la fuerza. La compresión resulta en la deformación

de los vasos sanguíneos y el desorden de los tejidos que rodean a los dientes. Posteriormente, el flujo sanguíneo y los cambios en el tejido periodontal pueden adaptarse a la fuerza de compresión. Los cambios metabólicos pueden ocurrir en las células del ligamento periodontal como resultado de la hipoxia y disminución de los niveles de nutrientes (Zainal y cols., 2011). Cuando la compresión es demasiado grande o demasiado rápida provoca la hialinización del ligamento. La vascularización es excluida y el ligamento aparece pálido o “hialinizado”. El movimiento del diente está limitado por el grado de resorción; ello significa que las células que han de responder a las necesidades de compresión y tensión deben ser movilizadas. En la superficie de compresión es un requisito eliminar hueso, por lo que los osteoclastos deben organizarse rápidamente; aparecen unas pocas horas después de haberse iniciado el movimiento del diente (Chiego, 2014). Además, recientemente, los osteocitos fueron identificados para funcionar como células mecano-sensoriales en el tejido óseo dirigiendo la resorción ósea y la formación ósea (Murshid, 2017).

En el **lado de tensión** de la raíz, las fibras de colágeno aparecen estiradas, hallándose las células orientadas en la dirección de la tensión. A medida que esto ocurre, la fuerza de tensión es transferida hacia una fuerza biológica caracterizada por la aparición de células que dan respuesta a estas necesidades. Fibroblastos, osteoblastos y cementoblastos se originan de células mesenquimáticas en esta área e inician su función. Muchos de los fibroblastos presentes actúan en la renovación del colágeno. A su vez, los osteoblastos sintetizan proteínas óseas necesarias para la producción de osteoide. Estos osteoblastos también mineralizan la matriz ósea. A medida que continúa la tensión, a lo largo de las superficies del hueso alveolar y el cemento se desarrolla hueso en torno a las fibras perforantes en tensión (Chiego, 2014).

La dinámica del proceso de MDO con fuerzas continuas se ha dividido en tres etapas: una fase inicial, una fase de latencia, y una fase de aceleración (Zainal y cols., 2011; Niklas y cols., 2013). La **fase inicial** del MDO es caracterizada por un movimiento rápido e inmediato y ocurre luego de 24 a 48 horas de la primera aplicación de fuerza al diente, este se atribuye principalmente al desplazamiento del diente en el espacio del LPD (Zainal y cols., 2011) causado por sus efectos de amortiguación (Niklas y cols., 2013). Los cambios de volumen

en el LPD inducen una redistribución de sus elementos tisulares, la reducción del volumen de ciertos vasos sanguíneos genera cambios en el flujo sanguíneo y la liberación de neuropéptidos en las terminaciones nerviosas. Esto induce una respuesta inflamatoria neurogénica en el LPD comprimido, con liberación de muchas moléculas neuroreguladoras como la IL-1 α , IL-6 y TNF- α , las cuales participan en la remodelación del periodonto (Tripuwabhrut y cols., 2010).

La remodelación ósea inducida por carga mecánica es un proceso estrechamente controlado por citoquinas, potentes mediadores inflamatorios, factores de crecimiento y derivados del ácido araquidónico (AA): prostaglandinas, leucotrienos (LTs), lipoxinas y tromboxanos, regulando el reclutamiento y la diferenciación de los osteoclastos en los sitios de resorción, esto en directa relación con la estimulación de RANKL para leucotrieno LTB₄, así como el aumento de la liberación de TNF- α *in vitro* para los leucotrienos LTB₄ y LTD₄, aumentando la osteoclastogénesis (Moura y cols., 2014). Además, en un estudio reciente en ratas con periodontitis y MDO se detectó un aumento significativo en la producción de nueve proteínas proinflamatorias (GRO/KC, IL-1 α , IL-1 β , IL-18, CCL2, CCL3, CCL20, TNF- α y VEGF); de las cuales siete proteínas se relacionaron principalmente con la fuerza mecánica (IL-1 α , IL-1 β , CCL2, VEGF, CCL3, TNF- α e IL-18), lo que sugiere que la fuerza biomecánica contribuye a la periodontitis y su consecuente resorción ósea (Nogueira y cols., 2017).

En la pulpa se ha descrito una hiperemia transitoria inmediata al MDO y se ha reportado una sobreexpresión de sustancia P, aumento de inmunorreactividad y presencia de receptores neuroquinina-1, es decir, la presencia de inflamación en el tejido pulpar, así como una disminución de la tasa respiratoria, aumento en el número de granulocitos, edema, actividad apoptótica, necrosis, degeneración odontoblástica y cambios fibróticos (Tripuwabhrut y cols., 2010).

En el caso de una aplicación prolongada y una mayor fuerza ortodóncica, el MDO a menudo se detiene durante un máximo de 20 días, condición denominada **fase de latencia**. Durante esta etapa, el tejido periodontal y el hueso alveolar del lado de compresión de la raíz dental sufre algunos trastornos circulatorios locales (Niklas y cols., 2013). Las zonas de compresión se reconocen fácilmente por la apariencia distorsionada de la disposición de las fibras colágenas del LPD. La

isquemia transitoria conduce al desarrollo de zonas hialinizadas y a la detención del movimiento dental, (Krishnan y Davidovitch, 2006) que en humanos dura aproximadamente 20 a 30 días (Zainal y cols., 2011).

Estudios histológicos en animales han mostrado que partes afectadas del LPD y del hueso alveolar adyacente muestran necrosis parcial; histológicamente, su apariencia es similar a los tejidos hialinizados. Se inician procesos de resorción del alvéolo dental, pero sólo se lleva a cabo en términos de socavar su superficie o “lámina cribiforme”, comenzando en el hueso vital. Si se excede esta resorción, el alvéolo colapsará, resultando en un movimiento repentino del diente (Niklas y cols., 2013). Generalmente ningún movimiento posterior del diente ocurre hasta la completa remoción de las áreas necróticas (Zainal y cols., 2011). Este proceso requiere el reclutamiento de células fagocíticas tales como macrófagos, células gigantes de cuerpo extraño y osteoclastos a partir de zonas no dañadas del LPD y de las cavidades de la médula ósea alveolar. Estas células actúan en tándem para eliminar el tejido necrótico de sitios del LPD comprimido y del hueso alveolar adyacente. En las zonas de tensión del LPD, los osteoblastos quiescentes (o células de revestimiento de la superficie ósea) se agrandan y comienzan a producir la matriz ósea nueva (osteoide). Nuevos progenitores de osteoblastos son reclutados entre la población de células similares a fibroblastos (pericitos) alrededor de los capilares del LPD. Estos preosteoblastos proliferan y migran hacia la superficie del hueso alveolar, a lo largo de las fibras de Sharpey. Al mismo tiempo, los fibroblastos del LPD en zonas de tensión comienzan a multiplicarse y a remodelar su matriz circundante (Krishnan y Davidovitch, 2006).

La **fase de aceleración** sigue a la de latencia, durante la cual la tasa de movimiento se incrementa paulatinamente (Zainal y cols., 2011) por la resorción directa del alvéolo, lo que permite el movimiento continuo de los dientes (Niklas y cols., 2013).

Por mucho tiempo se ha creído que el tratamiento ortodóncico en adultos toma más tiempo que en niños y adolescentes, pero la relación entre la edad y el MDO aún no ha sido completamente comprendida. Se ha observado que los tejidos peridentarios del adulto presentan características diferentes a la de los niños o adolescentes. Al aumentar la edad, la actividad celular disminuye, y los

tejidos se hacen más ricos en colágeno, afectando la respuesta de los tejidos adultos a las fuerzas ortodóncicas (Vargas y cols., 2010).

LA RATA COMO MODELO DE ESTUDIO PARA MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO

A finales del siglo XVIII o principios del siglo XIX, las ratas albinas se convirtieron en los animales de experimentación más utilizados en numerosas investigaciones biomédicas. Las ratas de laboratorio viven alrededor de 2-3.5 años (promedio de 3 años), mientras que la esperanza de vida mundial de los seres humanos es de alrededor 80 años. Así, un año humano es casi igual a dos semanas de rata (13,8 días de rata). Sin embargo, si bien se consideran las diferentes fases de la vida de las ratas, se puede observar fácilmente que las ratas tienen una breve y acelerada infancia con respecto a los seres humanos. Se vuelven sexualmente maduras a las 6 semanas de edad. Los seres humanos, por otro lado, se desarrollan lentamente y no alcanzan la pubertad hasta aproximadamente la edad de 11-12 años. En la edad adulta, cada día del animal es aproximadamente equivalente a 34,8 días humanos, es decir, un mes de rata es comparable a tres años humanos (Sengupta, 2013).

Aunque las ratas son elementos indispensables de la investigación biomédica, no son una forma en miniatura de los seres humanos, las diferencias en anatomía, fisiología, desarrollo y fenómenos biológicos deben tenerse en cuenta al analizar los resultados de cualquier investigación en ratas cuando la edad es un factor crucial (Sengupta, 2013).

Estos animales poseen una sola dentición compuesta por un incisivo, un canino y tres molares por hemiarcada. Sus incisivos son a crecimiento continuo y, sus molares, presentan un foramen apical completo y una fisiología muy similar a la de los molares humanos, aunque sufren mayor desgaste (Hanson, 2012). El tejido pulpar de estos molares presentan las mismas capas observadas en pulpa humana (Baptista y cols., 2010). En ratas jóvenes y viejas, el LPD está interpuesto entre la superficie completa de las raíces del molar y el hueso alveolar (Shimpo y cols., 2003).

A pesar de las diferencias con los humanos, las ratas son consideradas generalmente como un buen modelo para estudiar el MDO. Son relativamente de

bajo costo, lo que facilita el uso de grandes muestras. La preparación histológica de los tejidos de la rata es más fácil que, por ejemplo, los de perro. Otra ventaja importante es que la mayoría de los anticuerpos requeridos para técnicas biológicas celulares y moleculares están sólo disponibles para ratones y ratas. Como los ratones son muy pequeños para instalar un aparato ortodóncico efectivo, las ratas son la primera opción en este campo (Ren y cols., 2004).

Se debe prestar especial atención en los aspectos fisiológicos, tal como el desplazamiento distal natural de los molares que podría dirigir a una subestimación del movimiento mesial experimental del molar, o la continua erupción de los incisivos que podría conducir a una pobre definición de anclaje y un deficiente control de la dirección de la fuerza (Ren y cols., 2004).

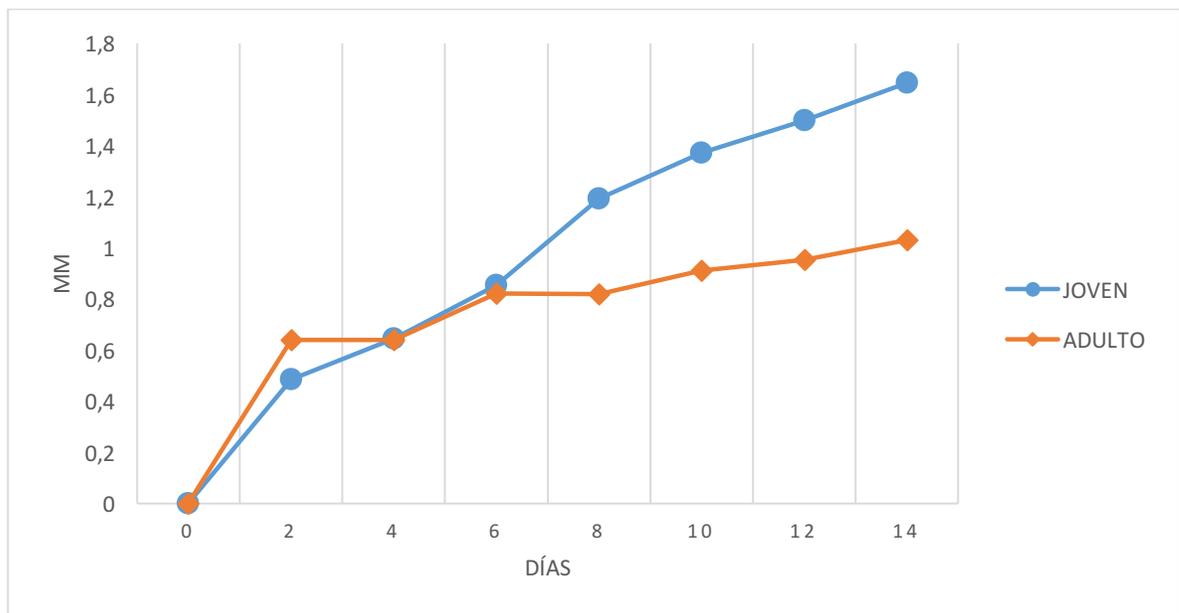
Ren y cols. en el año 2004, concluyeron que las ratas son un buen modelo de estudio para el MDO, a pesar de que hay graves deficiencias en el diseño experimental reportado en la literatura. El nuevo aparato desarrollado en ese estudio demostró ser estable, simple y capaz de entregar una fuerza continua y constante tan baja como 10 cN en los tres molares juntos sin interferencia en el bienestar del animal, y de ser capaz de compensar los efectos del desplazamiento distal del molar y la continua erupción de los incisivos (Ren y cols., 2004).

El proyecto Pri-ODO número 13/005 titulado “Influencia de la edad en los cambios histomorfológicos pulpoperiodontales después de movimiento dentario ortodóncico en ratas”, del cual este trabajo de investigación forma parte, ha finalizado algunos trabajos de investigación, en los que se ha concluido que no existen diferencias significativas en la respuesta pulpoperiodontal del primer molar maxilar sometido a un movimiento dentario ortodóncico mediante un resorte (coilspring) de Nitinol de 5 mm de longitud de 0.006 x 0.022, entre el primer molar e incisivo superior aplicando una fuerza de 25cN en la fase inicial del MDO entre ratas jóvenes y adultas (Contreras y cols., 2013), mientras que a los 14 días si se observaron algunas diferencias notándose una respuesta disminuida de los tejidos periodontales en ratas adultas respecto a jóvenes frente a un estímulo ortodóncico (Maureira y cols., 2010). Además se evaluó el micromovimiento diario en el mismo modelo animal, estableciendo una curva (ver Gráfico 1) que coincide con las fases descritas en la literatura, observándose una fase inicial entre los días 0 y 2 de MDO donde el grupo adulto mostró mayor rango de movimiento, pero la diferencia

no fue significativa ($p=0,15$). Una fase de latencia entre los días 3 y 7 de MDO, donde en ratas jóvenes tuvo una duración de 4 días, desde el día 2 hasta el día 6 con un MDO constante en función del tiempo. En el grupo adulto esta fase se mostró más larga iniciándose el día 2 y prolongándose hasta el día 8, con una duración de 6 días. La fase de aceleración a partir del día 6 en jóvenes y día 8 en adultos, se observó un aumento del movimiento dentario, comenzando así la fase de aceleración, la cual permanece con una pendiente constante hasta el final del MDO analizado (día 14). La magnitud de MDO observada en esta fase de aceleración fue significativamente mayor en ratas jóvenes que en adultas ($p=0,02$) (Maureira y cols., 2010).

Gráfico 1

Curvas de MDO del primer molar para el grupo joven y adulto, desde día de inserción de los aparatos ortodóncicos (D0), hasta día de eutanasia de las ratas (D14) (Maureira y cols., 2010).



Luego de tener los resultados de las tesis anteriores sobre los cambios pulpoperiodontales que ocurren en la fase inicial y de aceleración del MDO en ratas jóvenes y adultas (utilizando el mismo modelo de estudio), cabe preguntarse si existen diferencias significativas en los cambios histomorfológicos pulpares y periodontales observados entre ratas jóvenes y adultas en la fase de latencia del MDO, lo cual corresponde a la pregunta de investigación del presente trabajo.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Durante la fase de latencia del movimiento dentario ortodóncico (MDO), los cambios histomorfológicos pulpaes y periodontales son significativamente diferentes entre ratas jóvenes y adultas.

OBJETIVO GENERAL

Comparar entre ratas jóvenes y adultas los cambios histomorfológicos pulpaes y periodontales en la fase de latencia del MDO.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar las características histomorfológicas e histomorfométricas pulpaes entre ratas jóvenes y adultas, durante la fase de latencia de MDO.
2. Comparar las características histomorfológicas e histomorfométricas en ligamento periodontal entre ratas jóvenes y adultas, durante la fase de latencia del MDO.
3. Comparar las características histomorfológicas e histomorfométricas en superficies dentarias entre ratas jóvenes y adultas, durante la fase de latencia del MDO.
4. Comparar las características histomorfológicas e histomorfométricas en hueso alveolar entre ratas jóvenes y adultas, durante la fase de latencia del MDO.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio experimental en ratas de laboratorio enmarcado en el Proyecto PRI-ODO 13/005, titulado: “Influencia de la edad en los cambios histomorfológicos pulpoperiodontales después de movimiento dentario ortodóncico en ratas”.

Todos los procedimientos de manipulación de animales y preparación de muestras fueron realizados por la investigadora responsable del proyecto y una de las coinvestigadoras en el año 2010, las muestras utilizadas para desarrollar el objetivo de esta tesis se encontraban incluidas en parafina y fueron cortadas, teñidas y analizadas en el presente trabajo de investigación.

ANIMALES

En el proyecto completo se utilizaron 42 ratas Sprague-Dawley machos, 21 ratas jóvenes de 16 semanas y 21 ratas adultas de 46 semanas de edad. Todos los procedimientos fueron realizados en el Bioterio de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile, bajo las normas del Comité de Cuidado de Animales de Canadá adoptados por dicho Bioterio.

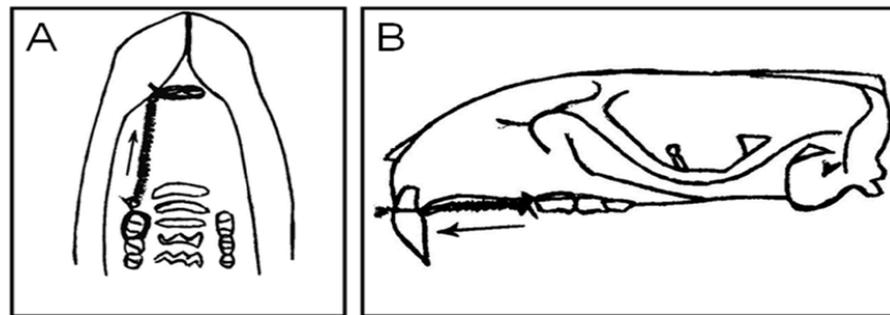
Las ratas fueron aclimatadas por 1 semana en cajas plásticas, con ciclos de 12hrs. luz-oscuridad y fueron alimentadas *ad libitum* con agua y pellets blandos, para disminuir las molestias al comer, después de la inserción de los aparatos ortodóncicos y para disminuir el riesgo de desinserción del aparato. No se les aplicó ningún medicamento anexo.

TRATAMIENTO ORTODÓNCICO

Todas las ratas recibieron un aparato ortodóncico en el hemimaxilar derecho, la hemimaxila izquierda constituyó el control interno para cada animal (sin aparato ortodóncico). Para poner los aparatos las ratas fueron dormidas mediante inyección intraperitoneal de Ketamina 60 mg/kg peso y Xylazina Hcl 10 mg/kg peso.

El aparato ortodóncico fue diseñado según el protocolo de King y Fischischweiger (King y Fischischweiger, 1982), la fuerza se aplicó por medio de un resorte (coilspring) de Nitinol de 5 mm de longitud de 0.006 x 0.022, entre el primer molar e incisivo superior derecho (aplicando una fuerza de 25cN) (ver Figura 1). Este resorte se fijó con ligadura metálica de acero de 0.010", alrededor del molar y del incisivo. Para obtener una buena retención en el incisivo se realizó un surco en la zona cervical usando un disco de diamante montado en porta disco para pieza de mano de baja velocidad (zona altamente mineralizada sin causar sensibilidad), y se aseguró su asentamiento con composite en ambos incisivos, el cual fue reposicionado cada vez que se alejó 1mm del margen cervical debido al crecimiento continuo del incisivo, mediante la realización de un nuevo surco a nivel cervical. Los resortes se activaron al momento de la instalación del aparato según el método de King y Fischischweiger (1982), que produce 60 gramos-fuerza. La fuerza se aplicó durante todo el periodo del experimento y se midió con un dinamómetro de esfera (Dentaurum).

Figura 1
Aparato ortodóncico en modelo de rata, en hemimaxilar superior.



MEDICIONES PARA EL MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNCICO

La medición del movimiento ortodóncico del molar se realizó directamente en boca con un pie de metro digital (Mitutoyo) con resolución de 0,01 mm, midiendo la distancia entre el primer y segundo molar derecho y entre el surco realizado en el incisivo derecho y mesial del primer molar (en mm).

La medición se realizó diariamente en las primeras horas de la mañana (8:30 am) durante las dos semanas después de colocados los aparatos, con las

ratas dormidas para evitar estrés, mediante la inyección intraperitoneal de Ketamina 60 mg/kg peso y Xylazina Hcl 10 mg/kg peso.

Cuatro ratas de cada grupo fueron sacrificadas a los días 1,3,7,10 y 14 días después de la inserción de los aparatos y dos ratas para analizar el tiempo 0 debido a que la sola colocación de los aparatos puede inducir algún cambio o trauma pulpar y periodontal que efectivamente no ha sido reportado, pero debe ser descartado.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y ANÁLISIS HISTOMORFOMÉTRICO

Todas las ratas fueron sacrificadas al tiempo establecido, ellas fueron dormidas por inyección intraperitoneal de Ketamina 60 mg/kg peso y Xylazina Hcl 10 mg/kg peso y sacrificadas por perfusión intracardiaca de solución salina por 3 min y de Paraformaldehido al 4% en PBS (pH 7,4) por 10 min. Las hemimaxilas superiores fueron disecadas, liberadas de sus tejidos blandos y fijadas por inmersión en Paraformaldehido al 4% en PBS (pH 7,4), 48 horas a 4°C.

Todos los procedimientos histológicos fueron realizados en el laboratorio de Histología y Morfología del Departamento de Patología y Medicina Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Los bloques molares fijados fueron desmineralizados en EDTA 10% e incluidos en parafina. Con un micrótopo se realizaron cortes histológicos seriados de 4 µm, en el eje mayor de los dientes. Los cortes fueron procesados y teñidos con Hematoxilina & Eosina, Fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), para la verificación de osteoclastos y Alfa-actina para músculo liso, para la mejor identificación de vasos sanguíneos.

La curva del micromovimiento resultante del análisis en este modelo mostró (ver Grafico 1) la fase inicial entre los días 0 y 2 de MDO; la fase de latencia entre los días 2 y 8 de MDO y una fase de aceleración entre los días 8 y 14. La reacción de los tejidos pulpo-periodontales durante la fase inicial fueron descritas en la Tesis de Paula Contreras (2013) usando cortes obtenidos entre los días 1 y 3, de la fase de aceleración fueron descritas en la tesis de Loreto Maureira (2010) usando cortes obtenidos a los 14 días y de la fase de latencia fueron descritos en la presente Tesis de Alexandra Jiménez usando cortes entre 3 y 7 días.

El estudio morfológico y morfométrico fue realizado en la corona y en la superficie radicular longitudinal de una raíz por corte, en 3 a 4 cortes seriados espaciados por al menos 30 μm .

Al menos 6 microfotografías fueron realizadas, 3 en zona de tensión y 3 en zona de presión y 3 por pulpa cameral y radicular, por corte, por días 1, 3, 7, 10 y 14, en ambos grupos etáreos: ratas jóvenes y ratas adultas y en controles con M1 no sometidos a fuerzas ortodóncicas.

Se usó un microscopio óptico Zeiss Axio Lab A1, con una cámara digital Canon EOS Rebel-T3, montada para microscopio, con software EOS Utility para transferencia de imágenes y para el procesamiento de imagen se utilizó el programa de dominio público, multiplataforma ImageJ (web: <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>) para Windows y MacOS.

Sobre microfotografías digitales a 400X de periodonto de inserción con tinción H&E, se analizó en una superficie de área conocida, determinada mediante el software de procesamiento de imagen, una serie de variables tanto en cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar, como se describen en la Tabla 1 y Figura 2 de A-D. Para contabilizar mejor el número de vasos sanguíneos, su identificación se realizó en microfotografías de cortes con tinción inmunohistoquímica con alfa actina para músculo liso.

El análisis de la pulpa se realizó también sobre Microfotografías digitales a 400X en una superficie de área conocida, determinada mediante el software de procesamiento de imagen, se analizó manualmente mediante el software cada variable observada en cada superficie tanto en pulpa coronal como en pulpa radicular, así como se describen en la Tabla 1 y Figura 2, E y F.

Un mismo observador realizó las mediciones sobre las mismas microfotografías en dos ocasiones con 3 semanas de intervalo, observándose una alta concordancia de las observaciones $\kappa=0.9$.

Una vez realizadas las mediciones para el análisis comparativo, las variables cuantitativas fueron homologadas a la menor superficie obtenida, tanto para las superficies pulpares como para las superficies de periodonto de inserción que contenía los tres sitios a analizar.

Tabla 1
Resumen de Variables a analizar

Hueso alveolar	Nº de lagunas de resorción	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de lagunas de Howship observadas en la superficie del hueso alveolar.	
	Nº de osteoclastos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de células multinucleadas TRAP positivas adosadas o cercanas a la superficie del hueso alveolar.	
	Nº de osteoblastos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de células de aspecto aplanado con núcleo redondeado adosadas a la superficie del hueso alveolar.	
	Nº líneas de crecimiento	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de marcas verticales que aparecen en el hueso alveolar testimonio de la aposición ósea.	
	Nº de osteocitos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de células incluidas en lagunas en la matriz mineralizada del hueso alveolar. Se aprecia la laguna y el núcleo de la célula en su interior	
	Nº de Osteoplastos o lagunas de osteocitos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de lagunas vacías, sin osteocito en su interior, sin núcleo celular evidente.	
Ligamento periodontal	Nº de zonas hialinas	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de zonas de destrucción tisular con colágeno degradado .	
	Área de zonas hialinas	Cada zona hialina observada es detectada y medida manualmente mediante el software de procesamiento de imágenes (um ²), así se obtiene además un promedio de áreas hialinas por ligamento.	
	Características morfológicas de los fascículos colágenos	Fibras finas :0 Fibras gruesas : 1	
	Características del ordenamiento de los fascículos colágenos	Laxo :0 Denso :1	
	Estado de inserción de las fibras colágenas	Bien insertadas y ordenadas : 0 Inserción desordenada y arremolinada: 1	
	Caracterización morfológica del infiltrado celular inflamatorio	Presencia de células inflamatorias (no:0, si:1)	
		Nº de linfocitos (contándolos directamente en la microfotografía)	
		Nº de PMNN (contándolos directamente en la microfotografía)	
	Presencia de edema	Nº de células compatibles con macrófagos (contándolos directamente en la microfotografía)	
	Vasos sanguíneos:	Visualizando el estado de la MEC (no:0, si:1)	
	Distribución según área de vasos.	Número de vasos. Se identificarán los vasos sanguíneos, por su morfología y tinción inmunohistoquímica con alfa actina para músculo liso, se contará el número de vasos por unidad de superficie según la técnica de Ren y cols. (2008).	
		Vasos grandes >500µm ² Vasos pequeños <500µm ²	
Cemento	Nº de lagunas de resorción	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de lagunas observadas en la superficie dentaria.	
	Nº de odontoclastos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de células multinucleadas TRAP positivas adosadas o cercanas a la superficie dentaria.	
	Nº de cementoblastos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de células de aspecto aplanado con núcleo redondeado adosadas a la superficie dentaria.	
	Nº de líneas de crecimiento en cemento	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de marcas verticales que aparecen en el cemento testimonio de la aposición constante .	
	Nº de cementocitos	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de células incluidas en lagunas en la matriz mineralizada del cemento dental. Se aprecia la laguna y el núcleo de la célula en su interior	

	Nº de lagunas vacías	1,2,3,4,5, etc. Dependiendo del número de lagunas vacías, sin cementocito en su interior, sin núcleo celular evidente.
Pulpa dentaria	Cameral	Número de vasos. Se identificarán los vasos sanguíneos, por su morfología y tinción inmunohistoquímica con alfa actina para músculo liso, se contará el número de vasos por unidad de superficie según la técnica de Ren y cols. (2008).
		Distribución según área de vasos
		Vasos grandes >500µm ²
		Vasos pequeños <500µm ²
		Características morfológicas pulpares (capa odontoblástica, zona acelular y zona celular).
	Caracterización morfológica del infiltrado celular inflamatorio	
	Presencia de edema	
	Radicular	Número de vasos. Se identificarán los vasos sanguíneos, por su morfología y tinción inmunohistoquímica con alfa actina para músculo liso, se contará el número de vasos por unidad de superficie según la técnica de Ren y cols. (2008).
		Distribución según área de vasos
		Vasos grandes >500µm ²
Vasos pequeños <500µm ²		
Características morfológicas pulpares (capa odontoblástica, zona acelular y zona celular).		
Caracterización morfológica del infiltrado celular inflamatorio		
Presencia de edema		

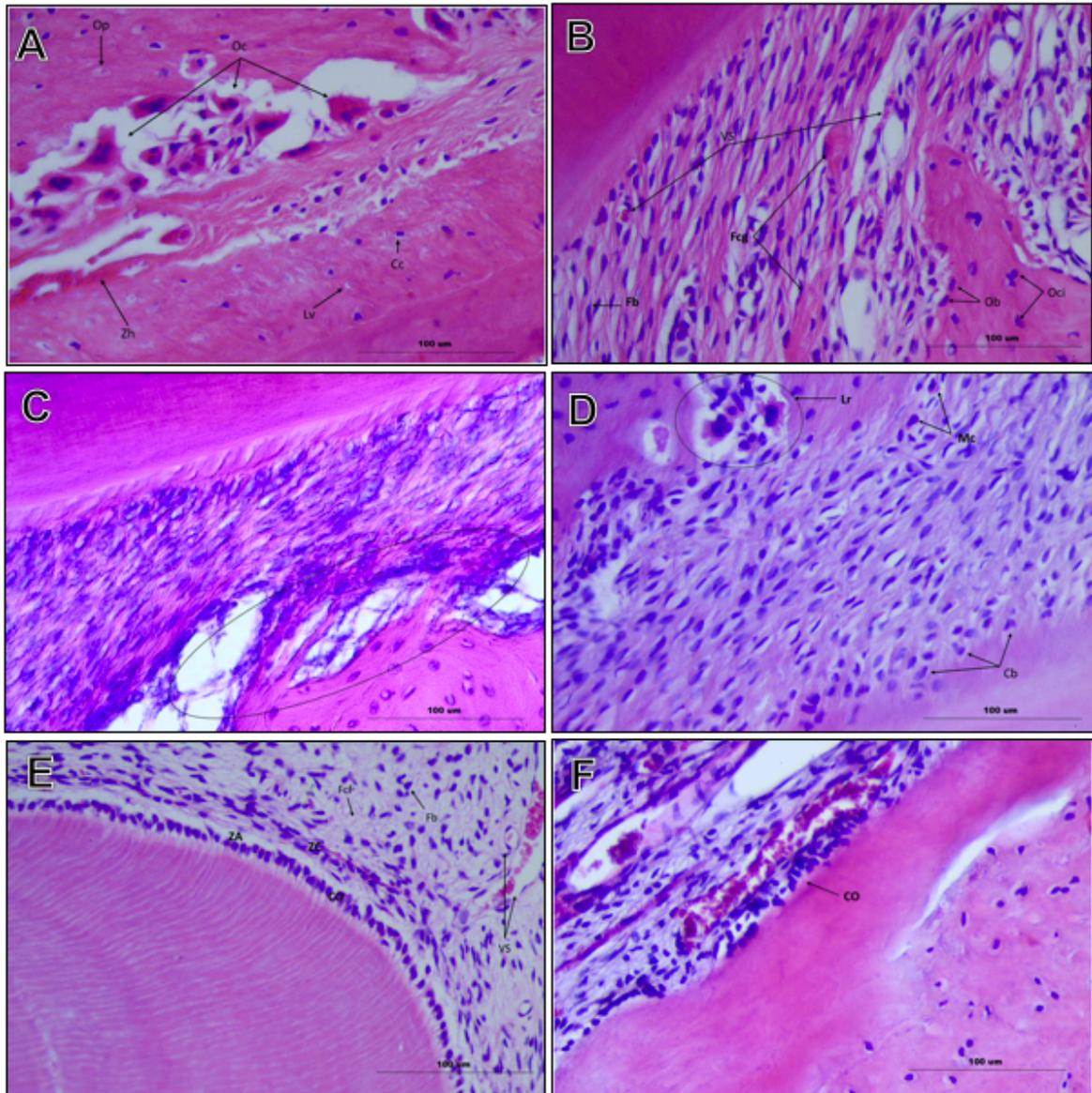


Figura 2. Microfotografía de M1 de rata. Tinción H&E, aumento 400X. **A**, Op: osteoplastos; Oc: osteoclastos; Zh: zona hialina; Cc: cementocito; Lv: laguna vacía. **B**, VS: vasos sanguíneos; Fcg: fibras de colágeno gruesas; Fb: fibroblasto; Ob: osteoblastos; Oci: osteocitos. **C**, mala inserción de fibras de colágeno en hueso alveolar. **D**, Lr: laguna de resorción; Mc: macrófagos; Cb: cementoblastos. **E**, O: capa odontoblástica. ZA: zona acelular. ZC: zona celular. Fcf: fibras de colágeno finas. Fb: fibroblastos. VS: vasos sanguíneos. Nótese presencia de edema. **F**: Nótese gran cantidad de vasos sanguíneos dilatados y congestionados, desorganización de la capa odontoblástica.

CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA EN FASE DE LATENCIA

Dado que el objetivo de este trabajo fue analizar los cambios morfológicos pulpoperiodontales ocurridos en la fase de latencia del primer molar maxilar de ratas sometido a MDO (establecido entre 3 y 7 días de MDO); un total de 14 ratas Sprague-Dawley machos, 6 ratas jóvenes de 16 semanas (3 por período) y 8 ratas adultas de 46 semanas de vida (4 por período), fueron analizadas, se utilizó como control la hemimaxila que no presentaba aparato.

En la pulpa dentaria se analizó la pulpa coronal y radicular. En periodonto de inserción se analizaron tanto el lado de tensión como de presión.

En el maxilar con MDO el movimiento del primer molar fue hacia mesial por lo que el lado de presión correspondió a la zona mesial de las raíces y el lado de tensión a la zona distal. En los maxilares controles (sin MDO) también se consideró un lado de presión y de tensión, tomando en cuenta que los dientes de ratas tienen una deriva o desplazamiento normal, pero a diferencia de los humanos, el movimiento es hacia distal, por lo que la zona distal fue el lado de presión y la mesial de tensión.

Un total de al menos 24 imágenes fueron medidas para pulpa dentaria y para periodonto de inserción en ratas adultas y de 18 imágenes en ratas jóvenes (ver Tabla 2). Una vez realizadas las mediciones para el análisis comparativo, las variables cuantitativas fueron homologadas a la menor superficie obtenida, la cual correspondió a $23.454,6 \mu\text{m}^2$ para las superficies pulpares y de $47.379,5 \mu\text{m}^2$ para las superficies de periodonto de inserción que contenía los tres sitios a analizar.

Tabla 2

Nº de muestras mínimas a observar por cada grupo experimental

Adultas	4 ratas , 4 dientes	Pulpa Coronal x 3 fotos Pulpa Radicular x 3 fotos	24 fotos
		Lado Tensión x 3 fotos Lado Presión x 3 fotos	24 fotos
Jóvenes	3 ratas , 3 dientes	Pulpa Coronal x 3 fotos Pulpa Radicular x 3 fotos	18 fotos
		Lado Tensión x 3 fotos Lado Presión x 3 fotos	18 fotos

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los datos fueron tabulados en Excel y los análisis estadísticos se realizaron en el programa STATA 10.0.

La determinación de la fase de latencia, donde se realizaron los análisis de resultados que son el objetivo de esta tesis, se realizó a partir de las curvas de migración del primer molar y la cantidad de movimiento en las ratas jóvenes y adultas. En estas curvas se determinaron los días de duración de las fases y se seleccionó el número de muestras a analizar por cada grupo etario.

Para el análisis de los datos, las variables cualitativas se expresaron en porcentajes y se analizaron estadísticamente mediante test de diferencia de proporciones y las variables cuantitativas (ejemplo número de células, número de vasos, áreas de vasos, etc.) se compararon mediante el test del signo de Wilcoxon debido a la distribución no paramétrica de los datos (test de Swilk $p > 0.05$).

RESULTADOS

COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS E HISTOMORFOMÉTRICAS PULPARES ENTRE RATAS JÓVENES Y ADULTAS

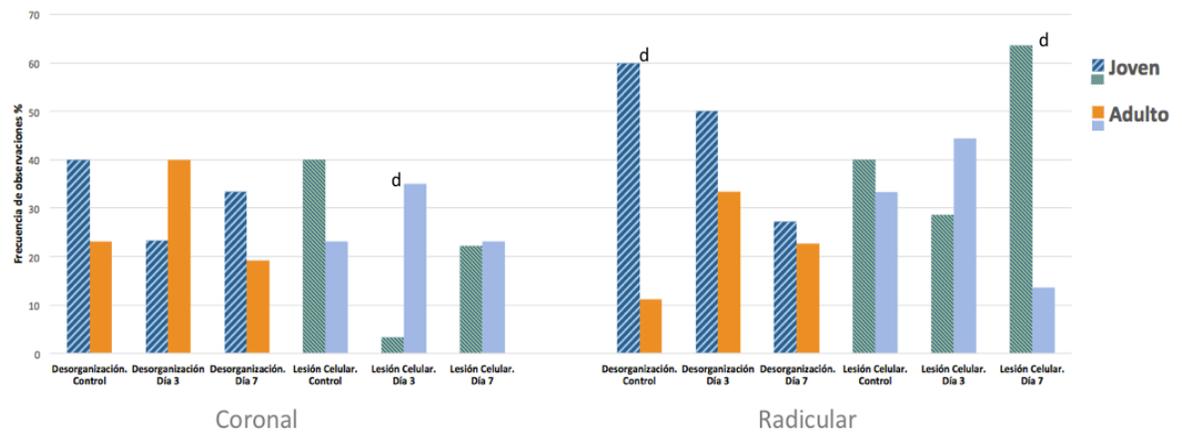
Las características morfológicas de la pulpa dentaria coronal y radicular del primer molar sometido a MDO de ratas jóvenes y adultas, fueron analizadas y comparadas. También se analizaron las características de los controles sin MDO.

Todas las superficies pulpares medidas fueron homologadas a la superficie menor obtenida, la cual correspondió a $23.454,6 \mu\text{m}^2$.

Los resultados obtenidos sobre las características generales de la pulpa dentaria de molares de rata de jóvenes y adultos con o sin MDO se presentan en las Tablas 3, 4, 5, Gráficos 2, 3, 4, 5 y Figuras 4, 5.

Con el MDO, la pulpa radicular presentó mayor desorganización y alteraciones inflamatorias que la pulpa coronal, tanto en ratas jóvenes como en adultas. La **capa odontoblástica** presentó alteraciones, con una desorganización más marcada en adultos que en jóvenes en pulpa coronal al día 3, sin embargo, en pulpa radicular, fueron los jóvenes los que presentaron mayores alteraciones (Ver gráfico 2 y Figuras 4 y 5). Los aspectos de **lesión celular en Odontoblastos** son más evidentes y con mayor porcentaje en muestras de ratas jóvenes en la pulpa radicular (incluso en algunas muestras controles) pero en pulpa coronal son las ratas adultas las que presentan alteraciones significativas. En la **zona acelular** se observaron mayores alteraciones en adultos con una gran invasión de células tipo fibroblasto, lo cual también se refleja en la alteración observada en la **zona celular** en adultos, sin embargo, estas alteraciones se redujeron tanto para jóvenes como para adultos desde el día 3 al día 7 (ver Tabla 3).

Gráfico 2
Alteraciones morfológicas observadas en la Zona Odontoblástica de la pulpa dentaria de M1 de ratas con o sin MDO



- a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

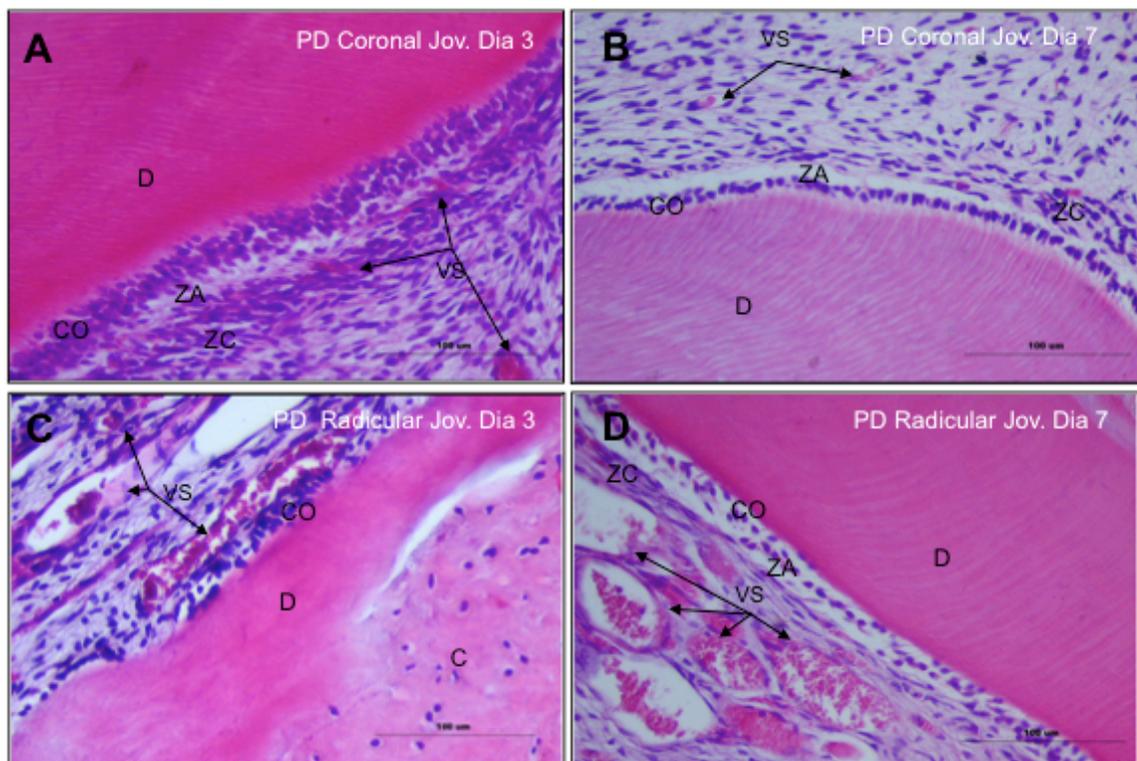


Figura 4. Microfotografía de primer molar superior de rata joven con MDO. Cortes sagitales de pulpa coronal y radicular, tinción H&E, aumento 400X. **A**, Pulpa Coronal al día 3 de MDO. **B**, Pulpa Coronal al día 7 de MDO. **C**, Pulpa Radicular al día 3 de MDO. **D**, Pulpa Radicular al día 7 de MDO. D: dentina. CO: capa odontoblástica. ZA: zona acelular. ZC: zona celular. VS: vasos sanguíneos. C: cemento.

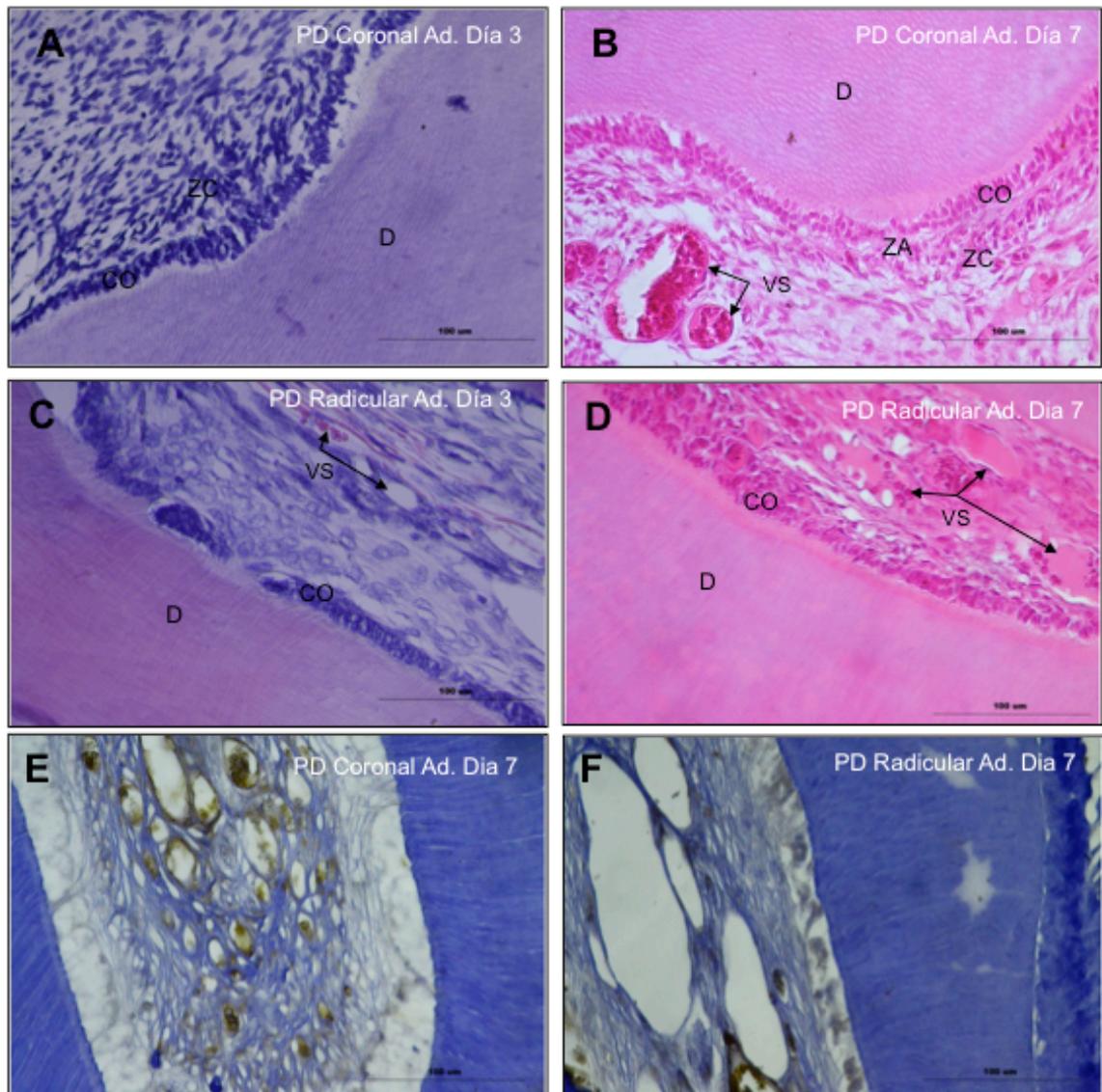


Figura 5. Microfotografía de primer molar superior de rata adulta con MDO. Cortes sagitales de pulpa coronal y radicular. **A, B, C, D** tinción H&E. **E, F**, técnica alfa actina. Aumento 400X. **A**, Pulpa Coronal al día 3 de MDO. **B**, Pulpa Coronal al día 7 de MDO. **C**, Pulpa Radicular al día 3 de MDO. **D**, Pulpa Radicular al día 7 de MDO. **E**, Pulpa Coronal al día 7 de MDO. **F**, Pulpa Radicular al día 7 de MDO. D: dentina. CO: capa odontoblástica. ZA: zona acelular. ZC: zona celular. VS: vasos sanguíneos.

Tabla 3

Características generales de la Pulpa Dentaria del 1° molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante fase de latencia (entre 3 y 7 días) observadas en una superficie de 23.454,6 μm^2 en la pulpa

PULPA DENTARIA	Jóvenes						Adultas					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	C (n=15)	R (n=8)	C (n=30)	R (n=14)	C (n=18)	R (n=11)	C (n=13)	R (n=9)	C (n=20)	R (n=9)	C (n=22)	R (n=26)
Desorganización en la capa odontoblástica	40%	60%	23,3%	50%	33,3%	27,3%	23,1%	11,1% ^(a)	40%	33,3%	19,2%	22,7%
Lesiones en Odontoblastos	40%	40%	3,3%	28,6%	22,2%	63,6%	23,1%	33,3%	35% ^(d)	44,4%	23,1%	13,6% ^(d)
Alteraciones en la zona acelular	80%	80%	46,7%	57,1%	44,5%	63,6%	92,3%	66,7%	80% ^(d)	100% ^(d)	65,4%	90,9% ^(d)
Alteraciones en la zona celular	26,7%	60%	6,7%	28,6%	27,8%	54,5%	38,5%	22,2%	55% ^(d)	88,9%	38,5%	72,7%
N° de células tipo fibroblastos	55,2±9,1 (42-72)	59,8±6,6 (54-70)	64,3±10,4 (41-83) ^(a)	45,4±19,6 (14-86)	55,7±10,3 (37-74) ^(b)	46±16,5 (20-71)	67,3±12,7 (38-90) ^(c)	55,2±11,5 (43-71)	51,5±10 (30-70) ^{(a)(c)}	43,1±8,3 (33-60) ^(a)	45,7±10,5 (23-65) ^{(a)(c)}	37,5±14,4 (17-78) ^(a)
N° de PMNN	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
N° de linfocitos	0,3±0,9 (0-3)	0±0	0±0	0±0	0,4±1,6 (0-7)	0±0	0,3±0,8 (0-2)	1,7±1 (0-15)	0±0 ^(a)	0±0	0±0 ^(a)	0±0
Presencia de infiltrado inflamatorio	13,3%	0%	0%	0%	11,1%	18,2%	15,4%	11,1%	0%	0%	0%	0% ^(d)
Presencia de edema	100%	80%	93,3%	85,7%	100%	100%	76,9% ^(c)	77,8%	100%	100%	100%	100%

a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

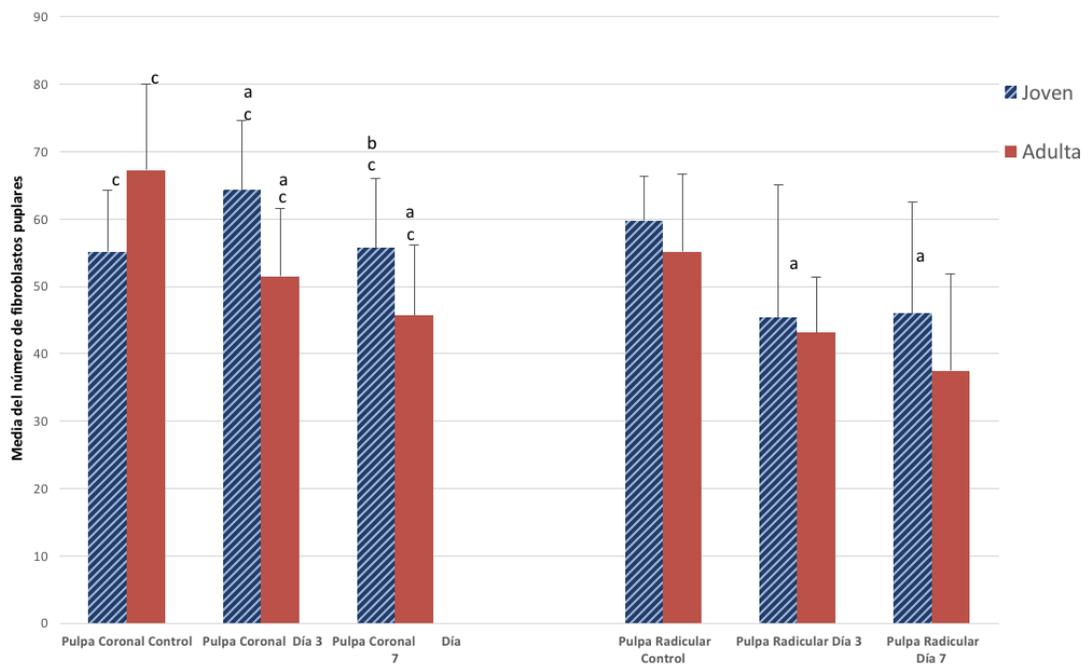
b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

En la pulpa coronal a los 3 días de MDO, se observó un aumento significativo del número de **células tipo fibroblastos** (ver Gráfico 3) en las ratas jóvenes respecto al control y respecto a las ratas adultas, el cual se redujo a niveles comparables con los controles a los 7 días; en cambio a nivel radicular se produce una reducción del número de fibroblastos en ratas jóvenes, la cual no resulta significativa respecto al control. En ratas adultas, tanto en la pulpa coronal como radicular se produce una significativa reducción del número de fibroblastos respecto al control adulto y también respecto al número de células tipo fibroblastos presentado por las ratas jóvenes.

Gráfico 3
Media y DS del N° de células pulpares tipo fibroblastos de M1 de ratas jóvenes y adultas con o sin MDO



- a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

La matriz extracelular fibrilar pulpar tanto en jóvenes como en adultas se observó constituida de fibras finas dispuestas en forma densa irregular, no se observaron cambios significativos entre ratas jóvenes y adultas (ver Tabla 4).

En este periodo se observó escasa invasión de **células inflamatorias**, detectándose algunos linfocitos particularmente en muestras de pulpa coronal de controles jóvenes y adultos, los cuales aumentaron levemente en jóvenes al día 7 en la pulpa coronal, en cambio en adultos el número de estas células se redujo significativamente. No se observó morfológicamente otro tipo de célula participante activa de la respuesta inflamatoria (ver Tabla 3).

A pesar de esto, la **respuesta inflamatoria vascular** se mostró muy importante produciéndose gran vasodilatación tanto en pulpa coronal como radicular, con un porcentaje de magnitud similar entre ratas jóvenes y adultas. Durante el periodo de observación se mantiene una dilatación y congestión constante en los vasos sanguíneos, con una leve reducción entre el día 3 y 7, particularmente en pulpa coronal de ratas jóvenes. En ratas adultas en cambio la dilatación y congestión vascular se mantienen (ver Tabla 5).

La respuesta vascular fue muy diferente entre pulpa coronal y pulpa radicular (ver Gráficos 4 y 5). Las ratas adultas presentaron mayor número de vasos sanguíneos en la pulpa cameral respecto a los jóvenes. Al día 3 de MDO el número de vasos de la pulpa coronal se redujo tanto en jóvenes como en adultos, pero la reducción fue significativamente mayor en ratas adultas que en jóvenes respecto al control. Al final de la fase de latencia (día 7), el número promedio de vasos sanguíneos de la pulpa coronal aumentó significativamente, tanto en jóvenes como en adultos respecto a lo observado el día 3, particularmente el tipo de vasos de pequeño calibre ($<500\mu\text{m}^2$). Además, las ratas adultas presentaron un incremento significativo en el número de vasos grandes. En la pulpa radicular en cambio, el número de vasos sanguíneos totales se redujo hacia el día 3 tanto en jóvenes como en adultas, pero en ratas adultas la diferencia resultó estadísticamente significativa respecto a las jóvenes. Hacia el día 7 en la raíz, el número de vasos aumentó tanto en jóvenes como en adultas y son los vasos grandes los más predominantes en pulpa radicular (ver Figura 4 y 5). Se observó además la presencia de edema durante todo el periodo de latencia tanto en la pulpa coronal como radicular de ratas jóvenes y adultas.

Tabla 4

Variables cualitativas observadas en una superficie de 23.454,6 μm^2 de las fibras colágenas de la Pulpa Dentaria del 1° molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante fase de latencia (entre 3 y 7 días) en la pulpa coronal (C) y radicular (R).

PULPA DENTARIA Fibras		Jóvenes						Adultas					
		Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
		C (n=15)	R (n=8)	C (n=30)	R (n=14)	C (n=18)	R (n=11)	C (n=13)	R (n=9)	C (n=20)	R (n=9)	C (n=22)	R (n=26)
Calidad de fibras colágenas	Finas	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
	Gruesas	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
Densidad de fibras colágenas	Laxo	6,7%	0%	6,7%	21,4%	5,6%	18,2%	38,5%	44,4%	60%	44,4%	18,2%	
	Denso	93,3%	100%	93,3%	78,6%	94,4%	81,8%	61,5% ^(d)	55,6% ^(d)	40% ^(d)	84,6%	81,8%	

d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

Tabla 4

Variables cualitativas observadas en una superficie de 23.454,6 μm^2 de las fibras colágenas de la Pulpa Dentaria del 1° molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante fase de latencia (entre 3 y 7 días) en la pulpa coronal (C) y radicular (R).

PULPA DENTARIA Fibras		Jóvenes						Adultas					
		Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
		C (n=15)	R (n=8)	C (n=30)	R (n=14)	C (n=18)	R (n=11)	C (n=13)	R (n=9)	C (n=20)	R (n=9)	C (n=22)	R (n=26)
Calidad de fibras colágenas	Finas	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
	Gruesas	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
Densidad de fibras colágenas	Laxo	6,7%	0%	6,7%	21,4%	5,6%	18,2%	38,5%	44,4%	60%	44,4%	18,2%	
	Denso	93,3%	100%	93,3%	78,6%	94,4%	81,8%	61,5% ^(d)	55,6% ^(d)	40% ^(d)	55,6%	81,8%	

d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

Gráfico 4

Media Y DS del N° vasos sanguíneos totales, pequeños y grandes observados en Pulpa Dentaria **Coronal** de M1 de ratas jóvenes y adultas con o sin MDO

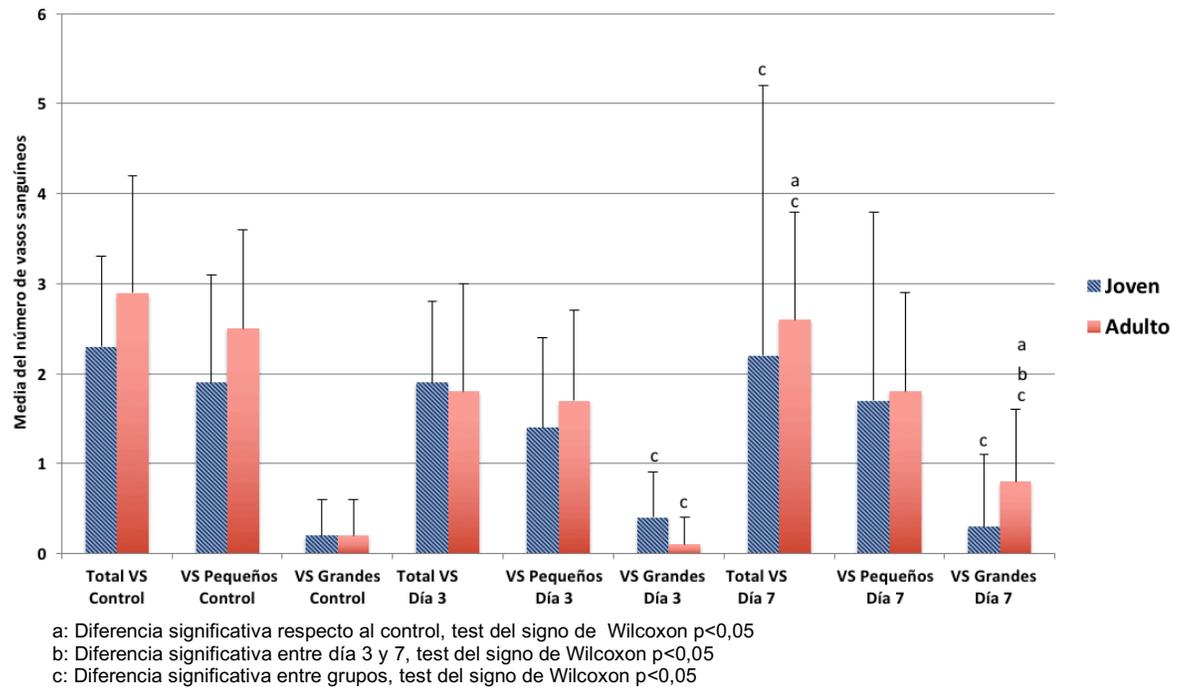
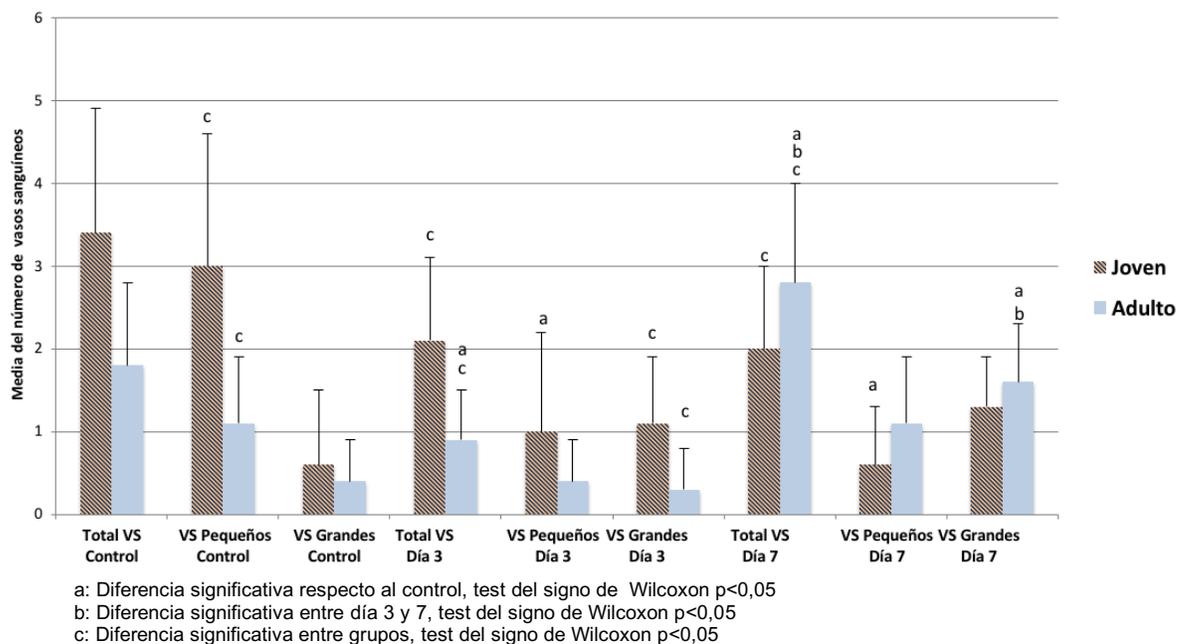


Gráfico 5

Media Y DS del N° vasos sanguíneos totales, pequeños y grandes observados en Pulpa Dentaria **Radicular** de M1 de ratas jóvenes y adultas con o sin MDO



COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS E HISTOMORFOMÉTRICAS EN PERIODONTO DE INSERCIÓN ENTRE RATAS JÓVENES Y ADULTAS

Las observaciones en el periodonto se dividieron en características del ligamento periodontal, cementarias y del hueso alveolar. Se analizó en cada muestra una superficie mínima equivalente a $47.379,5 \mu\text{m}^2$ que contenía los tres sitios a analizar.

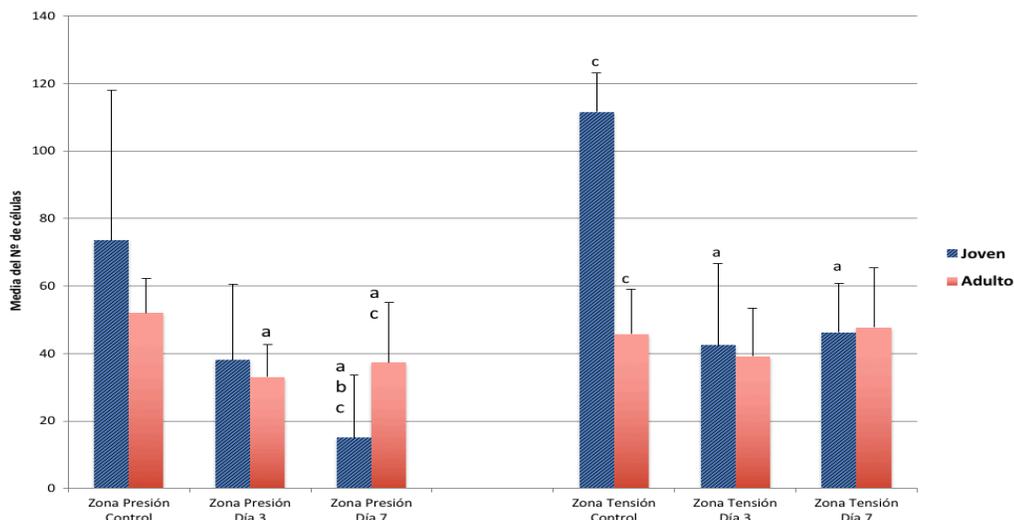
LIGAMENTO PERIODONTAL

Los resultados respecto a las características observadas en el LPD se presentan en las Tablas 6, 7, 8, 9, Gráficos 6, 7, 8, 9 y Figuras 6, 7.

En la zona de presión hay una reducción significativa del número de **células tipo fibroblastos**, en LPD de ratas adultas respecto a lo observado en los controles. Esta reducción es más acentuada para ratas jóvenes que para adultas, observándose una diferencia significativa entre los 3 y 7 días (ver Gráfico 6). En la zona de tensión, el número de células tipo fibroblastos se mantiene estable en jóvenes y adultas respecto al control, reduciéndose al día 3. El grupo de ratas jóvenes presentó la mayor cantidad de células tipo fibroblastos en el LPD (ver Figura 6 y 7).

Gráfico 6

Media y DS del número de células tipo fibroblastos observadas en el LPD de M1 de ratas, con o sin MDO



- a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
- b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
- c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
- d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

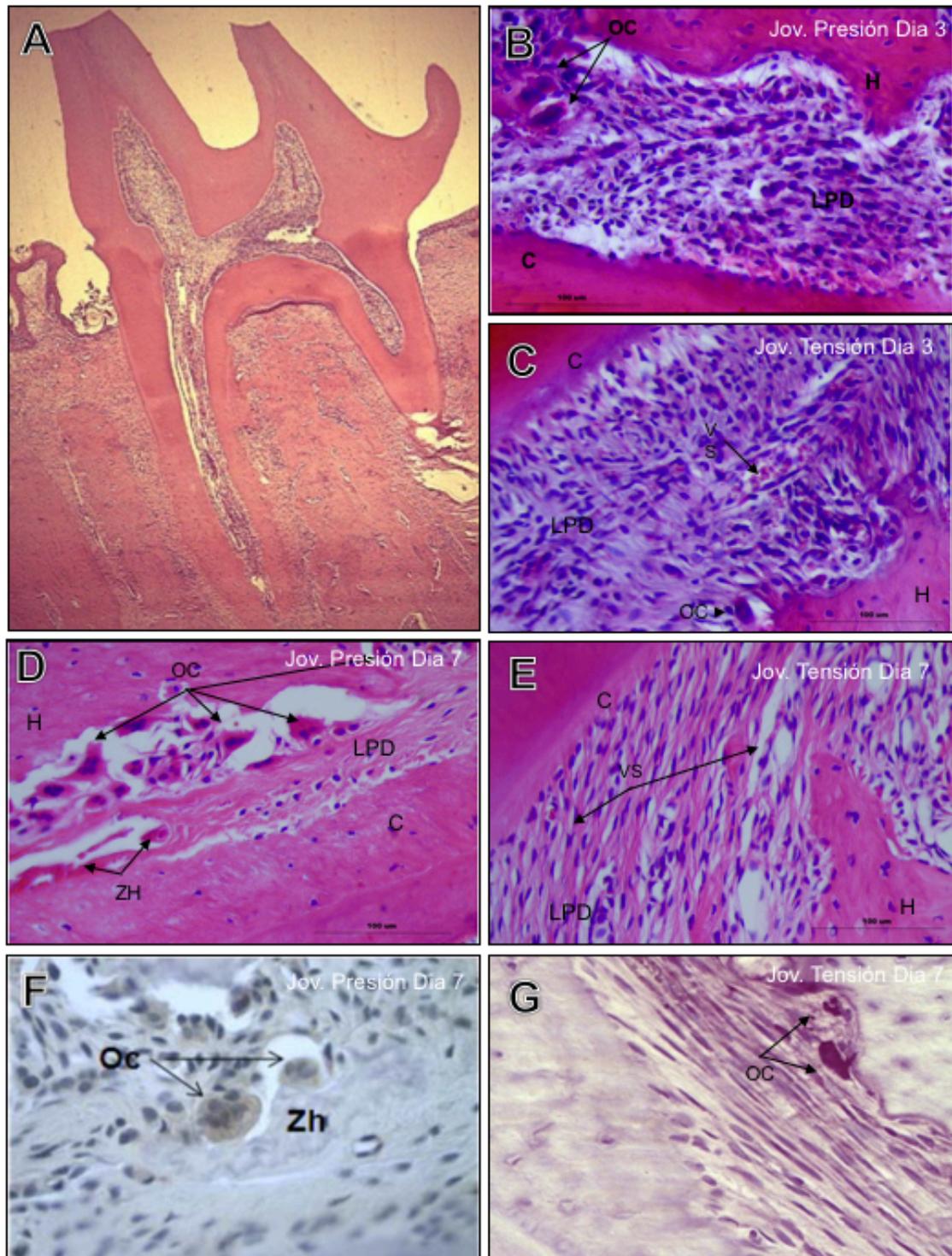


Figura 6. Microfotografía de primer molar superior de rata joven. Cortes sagitales de Pulpa. **A, B, C, D, E** H&E. **F, G** Técnica de TRAP. Aumento 400X. **A**, 1er molar superior, aumento 50X. **B**, Periodonto de inserción (PI) zona de presión al día 3 de MDO. **C**, PI zona de tensión al día 3 de MDO. **D**, PI zona de presión al día 7 de MDO. **E**, PI zona de presión al día 7 de MDO. **F**, PI zona de presión al día 7 de MDO. **G**, PI zona de presión al día 7 de MDO. H: hueso alveolar. Oc: osteoclastos. LPD: ligamento periodontal. VS: vasos sanguíneos. C: cemento dentario. Zh: zonas hialinas.

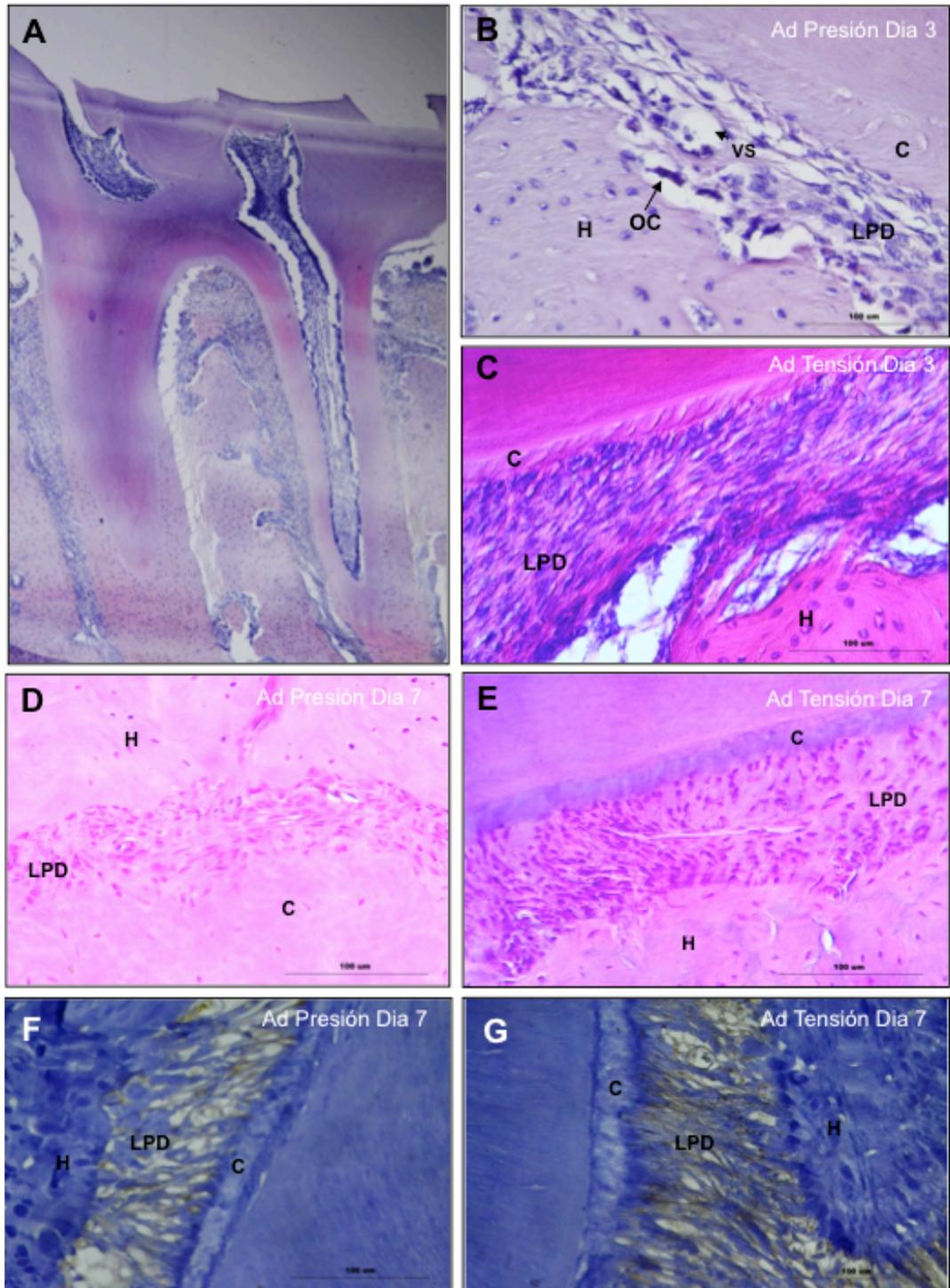
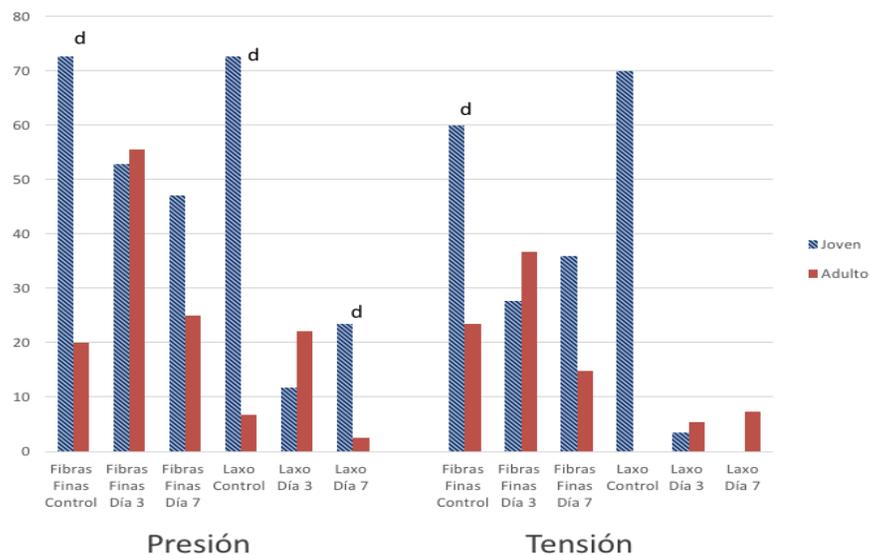


Figura 7. Microfotografía de primer molar superior de rata adulta. Cortes sagitales de Pulpa. **A, B, C, D, E** H&E. **F, G** Técnica de Alfa Actina. Aumento 400X. **A**, 1er molar superior, aumento 50X. **B**, Periodonto de inserción (PI) zona de presión al día 3 de MDO. **C**, PI zona de tensión al día 3 de MDO. **D**, PI zona de presión al día 7 de MDO. **E**, PI zona de tensión al día 7 de MDO. **F**, PI zona de presión al día 7 de MDO. **G**, PI zona de tensión al día 7 de MDO. H: hueso alveolar. OC: osteoclastos. LPD: ligamento periodontal. VS: vasos sanguíneos. C: cemento dentario.

Respecto a las características que describen lesión tisular, se observó que las ratas jóvenes con MDO, presentaron **zonas hialinas** en zona de presión aumentando significativamente al día 7 en comparación al día 3 (Figura 6D y 6E). En las ratas adultas se apreciaron zonas hialinas en zona de presión y tensión el día 7 (ver Tabla 6). Al día 3 de MDO es mayor el porcentaje de **fibras de colágeno finas** en el LPD en zona de presión en ambos grupos de ratas. Después de 7 días de movimiento es mayor la cantidad de fibras gruesas tanto en el lado de presión como de tensión en jóvenes y adultas. En cuanto a la densidad, predominan el conjunto de fibras densas en ambos grupos tanto al día 3 como al día 7, disminuyendo en porcentaje en el lado de presión y aumentando en el de tensión en el tiempo (ver Gráfico 7). La mala inserción en el hueso y cemento desde el día 3 al 7 aumenta considerablemente en ratas jóvenes en zona de presión y tensión. En ratas adultas la mala inserción disminuye en el tiempo (ver Tabla 7).

Gráfico 7

Aspectos de lesión tisular : Características de las fibras colágenas del LPD de M1 de ratas jóvenes y adultas con y sin MDO durante fase de latencia



- a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
- b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
- c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
- d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

Tabla 6

Variables cuantitativas observadas en una superficie de $47.379,5 \mu\text{m}^2$ de ligamento periodontal del 1º molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante la fase de latencia (entre 3 y 7 días) en el lado de presión (P) y tensión (T).

LIGAMENTO PERIODONTAL VARIABLES CUANTITATIVAS	Jóvenes						Adultas					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	P (n=11)	T (n=10)	P (n=17)	T (n=29)	P (n=17)	T (n=25)	P (n=15)	T (n=17)	P (n=9)	T (n=19)	P (n=40)	T (n=27)
Nº de Zonas hialinas	0±0	0±0	0,1±0,2 (0-1)	0±0	0,6±0,9 (a)(b) (0-2)	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,3±0,6 (a) (0-2)	0,03±0,2 (0-1)
Área de Zonas hialinas	0±0	0±0	19,3±59,3 (0-230)	0±0	1223,5±2566,7 (0-9525) (a)(b)	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	102±268,4 (a)(c) (0-1414)	12,4±64,3 (0-334)
Nº de células en el LPD (compatibles con Fibroblastos)	73,5±44,4 (12-145)	111,6±45,8 (43-166)	38,1±22,5 (8-88)	42,4±24,1 (0-86)(a)	15,1±18,5 (0-54) (a)(b)	46,3±14,5 (21-81)(a)	52±10,2 (30-71)	45,7±13,2 (25-70)(c)	33,1±9,5 (a) (20-49)	39,2±14,3 (17-65)	37,3±17,9 (a)(c) (8-83)	47,7±17,6 (27-90)
Nº de linfocitos	0±0	0±0	0±0	0,2±0,8 (0-3)	0±0	0,2±0,8 (0-3)	0,4±0,9 (0-3)	0,1±0,5 (0-2)	0±0	0±0	0,1±0,3 (a) (0-2)	0±0
Nº de PMNN	0,1±0,3 (0-1)	0±0	0±0 (a)	0,1±0,3 (0-1)	0±0 (a)	0±0	0±0 (c)	0,1±0,2 (0-1)	0±0	0±0	0±0	0±0
Nº de células compatibles con macrófagos	0,3±0,6 (0-2)	0,1±0,3 (0-1)	0,9±1,7 (0-6)	1±1,6 (a) (0-6)	0,9±1,1 (0-3)	2±1,7 (a) (0-6) (b)	0,9±1 (0-3)	1,5±3,2 (0-9)	0,3±0,5 (0-1)	0±0 (a)(c)	0,3±0,9 (a)(c) (0-5)	0,04±0,2 (a)(c) (0-1)

a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

Tabla 7

Variables cualitativas observadas en una superficie de 47.379,5 μm^2 de ligamento periodontal del 1° molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante la fase de latencia (entre 3 y 7 días) en el lado de presión (P) y tensión (T).

LIGAMENTO PERIODONTAL VARIABLES CUALITATIVAS	Jóvenes						Adultas					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	P (n=11)	T (n=10)	P (n=17)	T (n=29)	P (n=17)	T (n=25)	P (n=15)	T (n=17)	P (n=9)	T (n=19)	P (n=40)	T (n=27)
Calidad de fibras colágenas	Finas	72,7%	60%	52,9%	27,6%	47,1%	36%	20% ^(d)	23,5%	55,6%	25%	14,8%
	Gruesas	27,3%	40%	47,1%	72,4%	47,1%	64%	80%	76,5%	44,4%	75%	85,2%
Densidad de fibras colágenas	Laxo	72,7%	70%	11,8%	3,5%	23,5%	0%	6,7% ^(d)	0% ^(d)	22,2%	2,5% ^(d)	7,4%
	Denso	27,3%	30%	88,2%	96,5%	70,6%	100%	93,3%	100%	77,8%	97,5%	92,6%
Características de espacios interfibrilares	Bien	90,9%	90%	41,2%	55,2%	5,9%	40%	80%	58,8%	33,3%	17,5%	14,8% ^(d)
	Mucho espacio	0%	0%	47,1%	41,4%	52,9%	60%	13,3%	41,2%	55,6%	0%	0%
	Poco espacio	9,1%	10%	11,7%	3,4%	41,2%	0%	6,7%	0%	11,1%	82,5%	85,2%
Estado de inserción de las fibras colágenas en hueso alveolar	Bien	91%	100%	58,8%	72,4%	5,9%	56%	60%	76,5%	55,6%	75%	77,8%
	Mal	9%	0%	41,2%	27,6%	94,1%	44%	40%	23,5%	44,4%	25% ^(d)	22,2%
Estado de inserción de las fibras colágenas en cemento dentario	Bien	100%	100%	70,6%	100%	41,2%	92%	100%	100%	88,9%	95%	96,3%
	Mal	0%	0%	29,4%	0%	58,8%	8%	0%	0%	11,1%	5% ^(d)	3,7%
Presencia de células inflamatorias	18,2%	10%	35,3%	44,8%	47,1%	88%	66,7% ^(d)	41,2%	33,3%	0% ^(d)	12,5% ^(d)	3,7% ^(d)
Presencia de edema	18,2%	20%	70,6%	72,4%	58,8%	68%	46,7%	47,1%	77,8%	68,4%	67,5%	63%

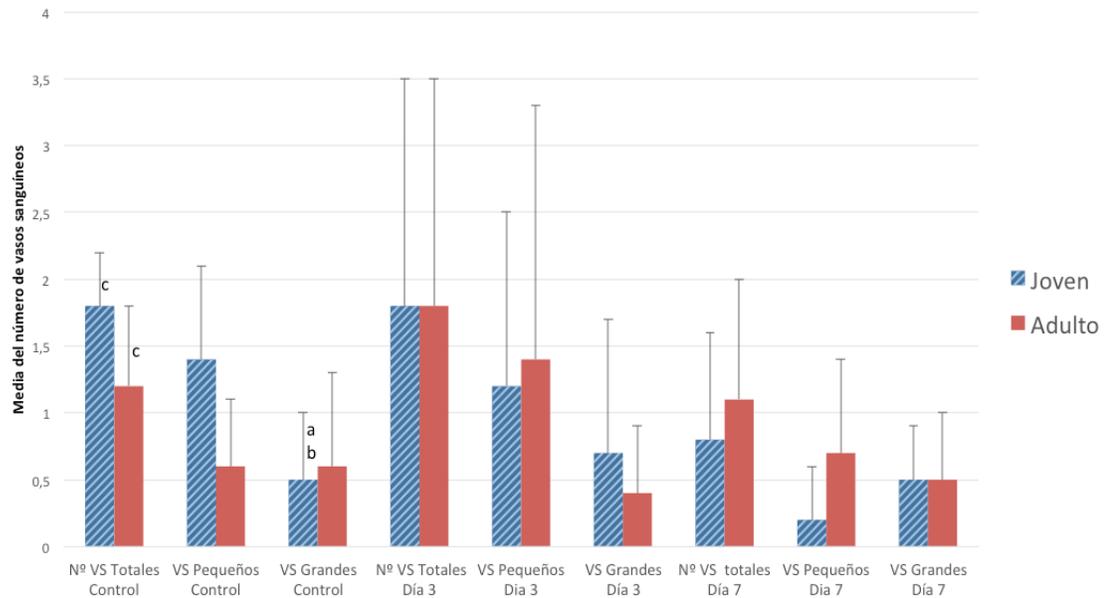
d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

Los **vasos sanguíneos** (VS) cumplen un rol importante en la respuesta inflamatoria en el ligamento periodontal, en el lado de presión se observó un número de vasos sanguíneos significativamente reducido en ratas adultas respecto a las ratas jóvenes control, además en la misma zona de presión al día 7 se observó en el grupo de jóvenes una disminución significativa del número total de VS respecto al control y al día 3 además, en el mismo grupo, la tendencia mostró una leve reducción en el número de VS de la zona de tensión. En las ratas adultas en cambio, se observó un aumento significativo del número de VS grandes para la zona de tensión del día 7, respecto al día 3 en la fase de latencia (ver Gráficos 8 y 9 y Tabla 8).

La **dilatación** vascular disminuye en la zona de presión en ambos grupos con el paso del tiempo, pero en la zona de tensión, esta característica aumenta. La **congestión** se reduce en ambas zonas desde el día 3 al 7 en ratas jóvenes. En ratas adultas, ocurre lo mismo en la zona de presión, pero en la zona de tensión la congestión vascular aumenta. La presencia de **edema** disminuye desde el día 3 al 7 en ambos grupos y zonas (ver Tabla 9). Se observaron además células inflamatorias, tales como los **macrófagos**, los que fueron significativamente más numerosos en ratas jóvenes, en zonas de presión al día 7 (ver Figura 6). En la zona de tensión también aumentan significativamente, pero desde el día 3 al 7 en ratas jóvenes, siendo además más numerosos que en las ratas adultas en ambos días. Otras células inflamatorias como **linfocitos** fueron observados en jóvenes en ambos días del estudio en la zona de tensión; en ratas adultas se observaron al día 7 en la zona de presión siendo significativamente mayor que el grupo control (ver Tabla 6).

Gráfico 8

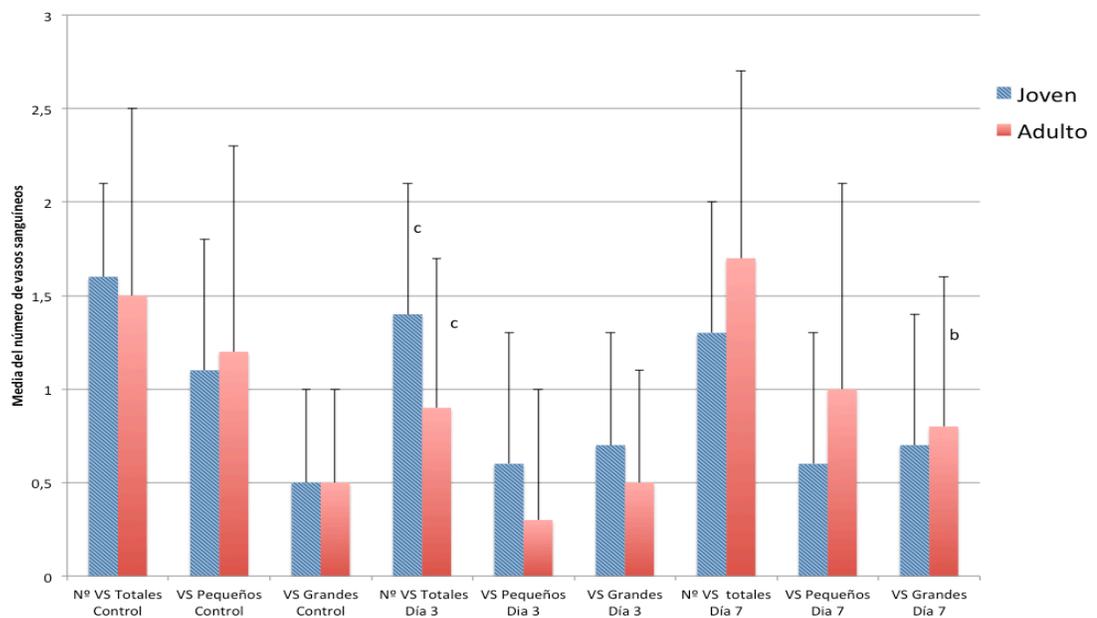
Aspectos inflamatorios del LPD en **Zona de Presión** de M1 de ratas jóvenes y adultas con y sin MDO: Media y DS del número de Vasos Sanguíneos (VS)



- a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

Gráfico 9

Aspectos inflamatorios del LPD en **Zona de Tensión** de M1 de ratas jóvenes y adultas con y sin MDO: Media y DS del número de Vasos Sanguíneos (VS)



- a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

Tabla 8

Variables cuantitativas de vasos sanguíneos (VS) observados en una superficie de $47.379,5 \mu\text{m}^2$ de ligamento periodontal (LPD) del 1º molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante la fase de latencia (entre 3 y 7 días) en el lado de presión (P) y tensión (T).

VASOS SANGUÍNEOS DEL LPD Variables Cuantitativas	Jóvenes						Adultas					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	P (n=11)	T (n=10)	P (n=17)	T (n=29)	P (n=17)	T (n=25)	P (n=15)	T (n=17)	P (n=9)	T (n=19)	P (n=40)	T (n=27)
Nº de VS total	1,8±0,4 (1-2)	1,6±0,5 (1-2)	1,8±1,7 (0-6)	1,4±0,7 (0-3)	0,8±0,8 (0-2) ^{(a)(b)}	1,3±0,7 (0-3)	1,2±0,6 ^(c) (0-2)	1,5±1 (0-4)	1,8±1,7 (0-6)	0,9±0,8 ^(c) (0-2)	1,1±0,9 (0-4)	1,7±1 ^(b) (0-4)
Área promedio total de VS	540,5±309 (209-885)	583,4±263,8 (473-855)	4698,5±16973 (0-70524)	929,6±760 (0-2968)	624,2±783 (0-2458)	760,8±752 (0-3179)	938,3±1020,2 (39-4201)	810,3±988,5 (0-3554)	589±535,9 (0-1518)	649±476,6 (0-1759)	1310±5603 (0-35745)	672,4±493,3 (0-1976)
Nº de VS grandes	0,5±0,5 (0-1)	0,5±0,5 (0-1)	0,7±1 (0-4)	0,7±0,6 (0-2)	0,5±0,5 (0-1)	0,7±0,7 (0-2)	0,6±0,7 (0-2)	0,5±0,5 (0-1)	0,4±0,5 (0-1)	0,5±0,6 (0-2)	0,4±0,5 (0-1)	0,8±0,8 (0-3)
Nº de VS pequeños	1,4±0,7 (0-2)	1,1±0,7 (0-2)	1,2±1,3 (0-4)	0,6±0,7 (0-2)	0,2±0,4 (0-1) ^{(a)(b)}	0,6±0,7 (0-2)	0,6±0,5 ^(c) (0-1)	1,2±1,1 (0-4)	1,4±1,9 (0-6)	0,3±0,7 ^(a) (0-2)	0,7±0,7 ^(c) (0-3)	1±1,1 ^(b) (0-4)

a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

Tabla 9

Variables cualitativas de vasos sanguíneos (VS) observados en una superficie de 47.379,5 μm^2 de ligamento periodontal (LPD) del 1º molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante la fase de latencia (entre 3 y 7 días) en el lado de presión (P) y tensión (T).

VASOS SANGUÍNEOS DEL LPD Variables Cualitativas	Jóvenes						Adultas					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T
	(n=11)	(n=10)	(n=17)	(n=29)	(n=17)	(n=25)	(n=15)	(n=17)	(n=9)	(n=19)	(n=40)	(n=27)
Dilatación	100%	100%	82,4%	89,3%	52,9%	92%	100%	88,2%	88,9%	68,4%	75%	85,2%
Congestión	100%	100%	64,7%	72,4%	23,5%	44%	93,3%	76,5%	77,8%	42,1% ^(d)	65% ^(d)	88,9% ^(d)
Ruptura de VS	0%	0%	5,9%	0%	0%	0%	6,7%	0%	0%	0%	0%	0%
Extravasación de eritrocitos	36,4%	30%	47,1%	34,5%	5,9%	8%	13,3%	5,9%	11,1%	0% ^(d)	7,5%	0%

d: Diferencia significativa entre grupos, test de diferencia de proporciones $p < 0,05$

SUPERFICIES DENTARIAS

Las características presentadas a nivel de las superficies dentarias se presentan en aspectos de lesión tisular (lagunas de resorción, odontoclastos y lagunas vacías) y de reparación tisular (cementoblastos, cementocitos y número de líneas de crecimiento).

Entre el día 3 y el día 7 el cemento dentario tanto en ratas jóvenes como en adultas no presentó grandes cambios. Se observó escasa **resorción** de las superficies. En cuanto a los **odontoclastos** se observó un número limitado en los jóvenes en la zona de tensión durante la fase de latencia. Hubo un aumento en el número de **lagunas vacías** en las zonas de presión en ambos grupos desde los 3 a los 7 días pero no fue estadísticamente significativo; en la zona de tensión al día 3 se observó una marcada diferencia entre las jóvenes y adultas siendo significativamente mayores en las adultas, hacia el día 7 hay una disminución significativa de las lagunas vacías en el grupo adulto con respecto al control y al día 3. Acerca de la reparación tisular, el número de **cementoblastos** durante la fase de latencia aumentó en la zona de tensión en ambos grupos siendo significativamente mayor en los adultos ($p < 0,05$). En ratas jóvenes en la zona de presión los cementoblastos disminuyeron en número durante el experimento, mientras que en adultos aumentaron siendo estadísticamente significativo el día 7 en comparación a los jóvenes. Las **líneas de crecimiento** se observaron en ratas adultas durante toda la fase de latencia en ambas zonas; en ratas jóvenes solo aparecieron en la zona de tensión al día 7. En ratas jóvenes, en ambas zonas, se observó un aumento de los **cementocitos** en el tiempo; en ratas adultas se observó una disminución de cementocitos tanto en zonas de presión como tensión, el día 7 en la zona de tensión se observó una diferencia significativa en número entre jóvenes y adultas, encontrándose mayormente en jóvenes (ver Tabla 10).

Tabla 10

Variables cuantitativas observadas en una superficie de 47.379,5 μm^2 de cemento dentario del 1º molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante la fase de latencia (entre 3 y 7 días) en el lado de presión (P) y tensión (T).

CEMENTO Variables cuantitativas	Jóvenes						Adultos					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	P (n=11)	T (n=10)	P (n=17)	T (n=29)	P (n=17)	T (n=25)	P (n=15)	T (n=17)	P (n=9)	T (n=19)	P (n=40)	T (n=27)
Nº de lagunas de resorción	0±0	0,2±0,4 (0-1)	0±0	0,1±0,6 (0-3)	0,1±0,2 (0-1)	0,2±0,8 (0-4)	0±0	0±0	0±0	0,1±0,2 (0-1)	0±0	0,1±0,3 (0-1)
Nº de odontoclastos	0,1±0,3 (0-1)	0,1±0,3 (0-1)	0±0 (a)	0±0,2 (0-1)	0±0 (a)	0±0,2 (0-1)	0±0	0,1±0,2 (0-1)	0±0	0±0	0±0	0±0
Nº de cementoblastos	9±5,7 (1-17)	10,5±9,4 (0-31)	3,6±2,3(a) (0-8)	2,3±1,8(a) (0-8)	2,1±2(a)(b) (0-6)	4±2,1(a)(b) (0-9)	3,7±2,7(c) (0-9)	4,8±2,6 (1-9)	2,7±1,4 (0-4)	3,6±2,5(c) (0-10)	6,3±3,2(c) (0-13)	5,4±2,5(b) (0-10) (c)
Nº de líneas de crecimiento	0,1±0,3 (0-1)	0,4±0,5 (0-1)	0±0 (a)	0±0 (a)	0±0 (a)	0,2±0,7 (0-3) (b)	0,2±0,4 (0-1)	0,5±0,5 (0-1)	0,2±0,4(c) (0-1)	0,1±0,2(a) (0-1)	0,3±0,4(c) (0-1)	0,2±0,4 (0-1)
Nº de cementocitos	0,8±0,4 (0-1)	0,5±0,5 (0-1)	2,2±3,4 (0-12)	0,7±1,4 (0-5)	4,2±4,7 (0-17)	2,1±2,8 (0-11)	1,2±3,1(c) (0-11)	1±1,5 (0-5)	3,6±4,2 (0-11)	0,8±1,3 (0-4)	3±3,9 (0-15)	1,2±2,9(c) (0-13)
Nº de lagunas vacías	0,6±0,5 (0-1)	0,2±0,4 (0-1)	0,5±1,5 (0-6)	0±0,2 (0-1)	0,8±1 (0-3)	0,3±0,7 (0-2)	0,2±0,8(c) (0-3)	0,7±0,8 (0-2)	0,6±0,9 (0-2)	0,5±1(c) (0-3)	0,5±1,5 (0-9)	0,1±0,3(a) (0-1) (b)

a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

HUESO ALVEOLAR

Las características observadas en las superficies óseas se presentan en la Tabla 11, los datos fueron analizados de acuerdo a lesión tisular (ver Gráfico 10), y reparación tisular (ver Gráfico 11).

La **resorción** en ratas jóvenes aumenta significativamente al día 7 en la zona de presión respecto al día 3 y disminuye en la de tensión, en cambio en las ratas adultas al día 7 disminuye en la zona de presión y aumenta en la de tensión de forma significativa en relación al control. El mayor número alcanzado de **osteoclastos** es al día 7 en ratas jóvenes en la zona de presión aumentando en comparación al día 3; en la zona de tensión los osteoclastos también aumentan en el tiempo siendo significativamente mayor en número al día 3 con respecto a las adultas (ver Figura 6 y 7). En las ratas adultas el número disminuye en la zona de presión y aumenta en la zona de considerablemente en relación al control y día 3. Al observar el número de **osteoblastos** en las ratas jóvenes, este se reduce al día 7 respecto del día 3 en la zona de presión, mientras que en la zona de tensión el número se mantuvo estable. En las ratas adultas aumentaron en ambas zonas siendo significativamente mayor durante la fase de latencia en relación al control. El **número de líneas de crecimiento** en las ratas jóvenes al día 3 disminuye de forma importante en el lado de presión respecto al control, mientras que en el lado de tensión se observa un leve aumento al día 3. En las ratas adultas disminuyen tanto en el lado de presión como en el de tensión en el tiempo, en la zona de tensión esta disminución es estadísticamente significativa respecto al control.

Los **osteocitos** en las ratas jóvenes aumentaron en la zona de presión al final de la fase de latencia a diferencia de la zona de tensión, en donde el número se mantuvo. En las ratas adultas, en la zona de presión, el número de osteocitos aumenta, mientras que en la de tensión disminuye, al día 7 se puede observar una diferencia significativa en el lado de tensión entre joven y adulta donde en adultas el número es mayor. Los **osteoplastos** en las ratas adultas disminuyen en la zona de presión así como en la de tensión al término de la fase de latencia. En el grupo de jóvenes aumentan en el tiempo en el lado de presión y disminuyen en el de tensión. Se puede observar al día 3 una diferencia significativa entre jóvenes y adultos en la zona de presión, siendo mayor en las ratas adultas.

Gráfico 10

Medias y DS de Características de Lesión Tissular y Pérdida de Hueso Alveolar de M1 de ratas jóvenes y adultas con o sin MDO

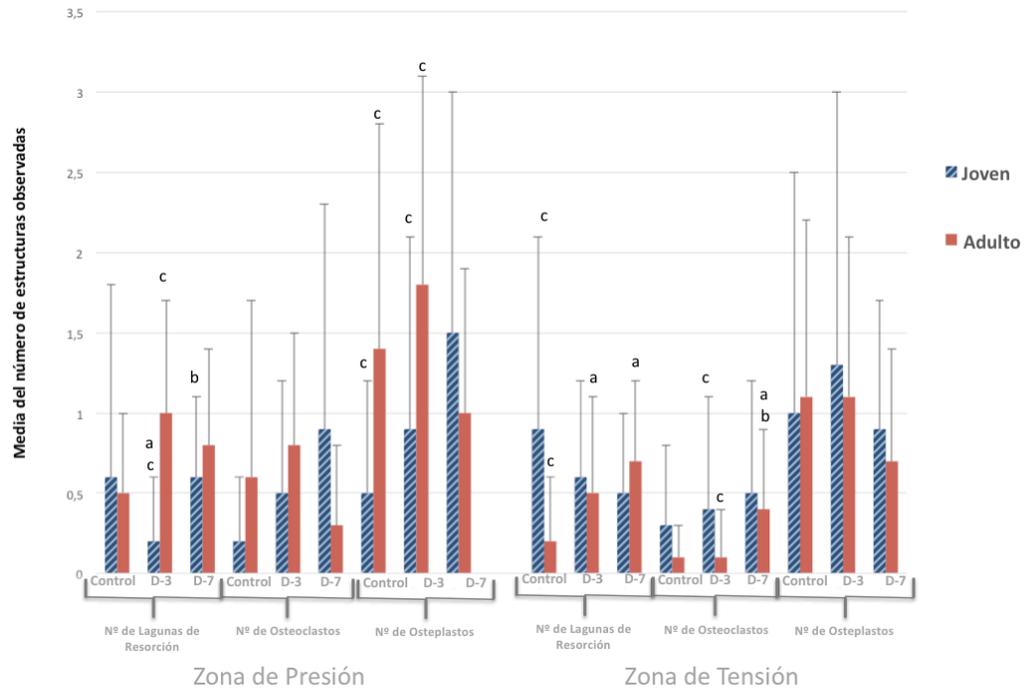
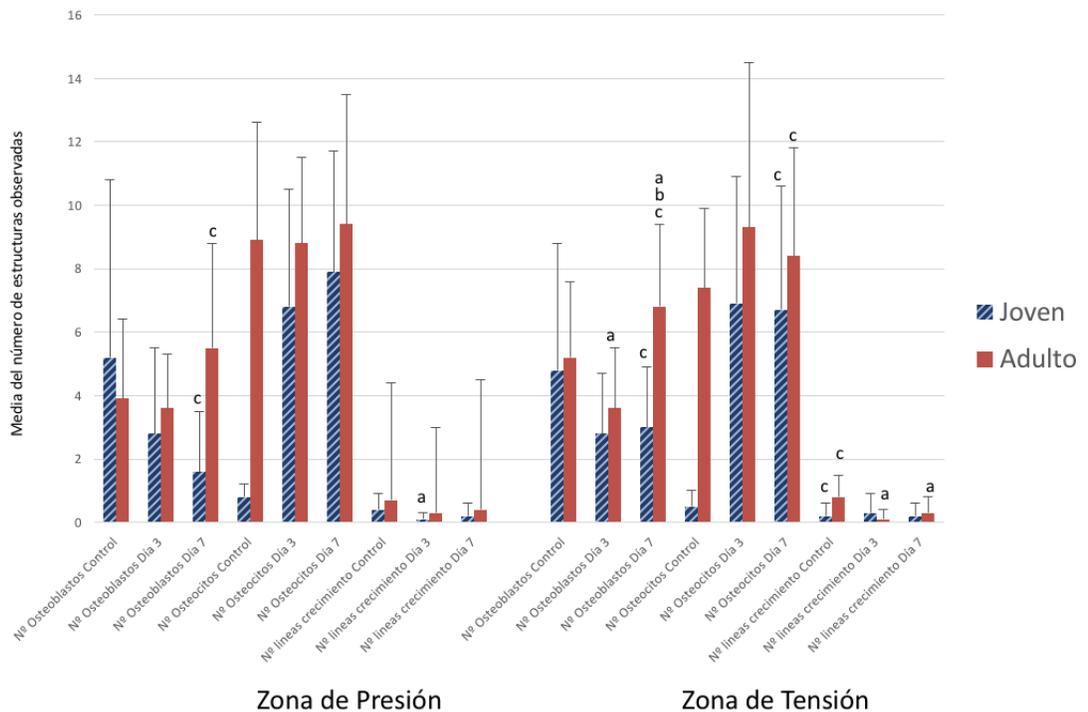


Gráfico 11

Medias y DS de Características de reparación tisular de Hueso Alveolar de M1 de ratas jóvenes y adultas con o sin MDO



a: Diferencia significativa respecto al control test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 b: Diferencia significativa entre día 3 y 7 test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$
 c: Diferencia significativa entre grupos test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

Tabla 11

Variables cuantitativas observadas en una superficie de 47.379,5 μm^2 de cemento dentario del 1º molar de ratas Jóvenes y Adultas con y sin MDO durante la fase de latencia (entre 3 y 7 días) en el lado de presión (P) y tensión (T).

HUESO ALVEOLAR Variables cuantitativas	Jóvenes						Adultos					
	Control		Día 3		Día 7		Control		Día 3		Día 7	
	P (n=11)	T (n=10)	P (n=17)	T (n=29)	P (n=17)	T (n=25)	P (n=15)	T (n=17)	P (n=9)	T (n=19)	P (n=40)	T (n=27)
Nº de lagunas de resorción	0,6±1,2 (0-4)	0,9±1,2 (0-4)	0,2±0,4 ^(a) (0-1)	0,6±0,6 (0-2)	0,6±0,5 ^(b) (0-1)	0,5±0,5 (0-1)	0,5±0,5 (0-1)	0,2±0,4 ^(c) (0-1)	1±0,7 ^(c) (0-2)	0,5±0,6 ^(a) (0-2)	0,8±0,6 (0-2)	0,7±0,5 ^(a) (0-1)
Nº de células tipo osteoclasto	0,2±0,4 (0-1)	0,3±0,5 (0-1)	0,5±0,7 (0-2)	0,4±0,7 (0-2)	0,9±1,4 (0-5)	0,5±0,7 (0-2)	0,6±1,1 (0-4)	0,1±0,2 (0-1)	0,8±0,7 (0-2)	0,1±0,3 ^(c) (0-1)	0,3±0,5 (0-1)	0,4±0,5 ^(a) (0-1) ^(b)
Nº de osteoblastos	5,2±5,6 (0-17)	4,8±4 (0-10)	2,8±2,7 (0-10)	2,8±1,9 (0-8)	1,6±1,9 (0-6)	3±1,9 (1-7)	3,9±2,5 (0-8)	5,2±2,4 (1-10)	3,6±1,7 (2-7)	3,6±1,9 ^(a) (0-7)	5,5±3,3 ^(c) (0-14)	6,8±2,6 ^(a) (1-13) ^{(b)(c)}
Nº de líneas de crecimiento	0,4±0,5 (0-1)	0,2±0,4 (0-1)	0,1±0,2 ^(a) (0-1)	0,3±0,6 (0-2)	0,2±0,4 (0-1)	0,2±0,4 (0-1)	0,7±0,6 (0-2)	0,8±0,7 ^(c) (0-2)	0,3±0,5 (0-1)	0,1±0,3 ^(a) (0-1)	0,4±0,5 (0-1)	0,3±0,5 ^(a) (0-2)
Nº de osteocitos	6,9±7,3 (0-19)	8,7±6 (0-18)	6,8±3,7 (0-13)	6,9±4 (2-17)	7,9±3,8 (2-16)	6,7±3,9 (1-17)	8,9±3,7 (4-17)	7,4±2,5 (3-13)	8,8±2,7 (6-13)	9,3±5,2 (3-19)	9,4±4,1 (2-23)	8,4±3,4 ^(c) (2-14)
Nº de osteoplastos	0,5±0,7 (0-2)	1±1,5 (0-4)	0,9±1,2 (0-4)	1,3±1,7 (0-7)	1,5±1,5 (0-5)	0,9±0,8 (0-3)	1,4±1,4 ^(c) (0-5)	1,1±1,1 (0-3)	1,8±1,3 ^(c) (1-5)	1,1±1 (0-3)	1±0,9 (0-4)	0,7±0,7 (0-2)

a: Diferencia significativa respecto al control, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

b: Diferencia significativa entre día 3 y 7, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

c: Diferencia significativa entre grupos, test del signo de Wilcoxon $p < 0,05$

DISCUSIÓN

La aplicación de fuerzas ortodóncicas generan cambios tisulares importantes a nivel dentario y periodontal, involucrando respuestas inflamatorias, resorción ósea controlada y una deposición de hueso en sitios específicos del hueso alveolar para acompañar el movimiento dentario. Estas tensiones provocan la activación de células, tales como fibroblastos, macrófagos, osteocitos, osteoblastos y osteoclastos (Sprogar y cols., 2010; Brooks y cols., 2011), generando cambios y modelaje de la matriz extracelular del ligamento periodontal, del tejido óseo, de los tejidos vascular y nervioso a lo largo de todos los tejidos relacionados con las superficies radiculares dentarias.

Múltiples factores que pueden modificar el éxito y las expectativas de la terapia ortodóncica, entre ellos la edad, la presencia de enfermedades óseas, el consumo de fármacos que puedan afectar el metabolismo óseo, son factores que pueden alterar la efectividad del tratamiento (Vargas y cols., 2010). Al respecto algunos estudios en animales de experimentación han mostrado que animales más añosos responden de manera diferente a un protocolo ortodóncico estandarizado que los más jóvenes y aunque hasta ahora no se han podido identificar los eventos moleculares y biológicos subyacentes, la edad en sí misma representa un factor a tener en cuenta y a estudiar (Ren y cols., 2007).

La dinámica del proceso de MDO con fuerzas continuas describe una serie de etapas: una fase inicial, una fase de latencia, y una fase de aceleración (Zainal y cols., 2011; Niklas y cols., 2013), y existen pocas investigaciones que exploren los cambios en la magnitud del movimiento dentario, morfología del periodonto de inserción y de la pulpa dentaria, en cada una de estas fases y en individuos de distintas edades sometidos a terapia ortodóncica (Ren y cols., 2008b). De acuerdo a la literatura, no hay evidencia suficiente de la existencia de diferencias histomorfológicas frente al MDO entre jóvenes y adultos; tampoco hay evidencia suficiente para demostrar que las fuerzas de ortodoncia ponen en peligro a la pulpa dental humana en términos de reducción del flujo sanguíneo y alteraciones irreversibles pulpares. Sin embargo, una historia de trauma dental puede ser considerado como un factor de riesgo para la pérdida de la vitalidad pulpar durante

el tratamiento de ortodoncia (Javed y cols., 2015). Estudios realizados en seres humanos adolescentes o en animales adultos jóvenes sugieren que las reacciones pulpares, evocadas por las intervenciones de ortodoncia son reversibles y tienen un efecto sin larga duración sobre la fisiología de la pulpa. Sin embargo, un número cada vez mayor de adultos y adultos mayores, buscan tratamiento de ortodoncia y surge la pregunta de si las reacciones pulpares en el tratamiento ortodóncico cambian con la edad (von Böhl y cols., 2016).

Es la razón por la cual el objetivo del presente estudio fue presentar datos cuantitativos y cualitativos sobre los cambios histomorfológicos de la pulpa dentaria y del periodonto de inserción en la fase de latencia del MDO de primeros molares maxilares de ratas jóvenes y adultas.

CAMBIOS PULPARES

Al observar los resultados reportados en este estudio para la pulpa dentaria, se mostró que la pulpa radicular presentó mayor desorganización tisular y más alteraciones inflamatorias que la pulpa coronal, tanto en ratas jóvenes como en adultas con MDO. Sin embargo, se observó una respuesta celular/vascular muy diferente para la pulpa coronal y la pulpa radicular entre ratas jóvenes y adultas.

Las ratas adultas presentaron más lesiones celulares y desorganización odontoblástica en la pulpa coronal que las ratas jóvenes, sin embargo, en la pulpa radicular mostraron más alteraciones vasculares, mayor número de vasos de gran calibre y congestión, que las ratas jóvenes. Las ratas jóvenes mostraron sólo a nivel de la pulpa radicular desorganización celular de la capa Odontoblástica, dilatación y congestión vascular. En general estas alteraciones se redujeron principalmente para adultos desde el día 3 al día 7 demostrando que se trata de lesiones reversibles.

La mayor alteración de la pulpa radicular puede deberse a la cercanía de la pulpa radicular con la zona efectiva de aplicación de fuerza, y en algunos casos se ha reportado estrangulamiento de los vasos sanguíneos en la región del foramen apical debido a fuerzas iniciales de MDO reduciendo el flujo sanguíneo, alterando el metabolismo celular y causando lesión celular, especialmente en los compartimientos apicales y medios de la pulpa (Grünheid y cols., 2007). También pueden explicarse por la dificultad para establecer las condiciones de aplicación

de fuerza ideal para los molares de ratas, aplicando una fuerza que puede resultar pesada. Un molar humano es aproximadamente 50 veces más grande que el de una rata (Ren y cols., 2004), lo que significa que el efecto de una fuerza de 25 cN en un molar de rata es comparable con una fuerza de 1250 cN (1,25 kg) en un molar humano, fuerza que supera el límite fisiológico de respuesta del organismo y por tanto, podría generar reacciones exageradas y no representativas de la verdadera respuesta del organismo ante la aplicación de fuerzas ortodóncicas controladas. Aún así, no existe evidencia acerca de la fuerza óptima de aplicación y la mayoría de los estudios utilizan fuerzas mayores a 20cN (Ren y cols., 2004; Von Böhl y cols., 2012). Por otra parte, la aplicación de la fuerza en los diferentes estudios usando la rata como modelo experimental, ha sido generada por separaciones elastoméricas o por resortes que liberan fuerzas de 40 cN, 60 cN, o incluso 120 cN (Ren y cols., 2003), las cuales no se mantienen constantes en el tiempo. En este estudio se utilizó un coil de cierre de Nitinol Sentalloy 25 cN Ultra Light, de 5 mm de longitud, GAC NY, el cual entrega una fuerza constante de 25 cN, en 3-15 mm de activación. Entre los coils disponibles en el mercado, este es el que libera la menor cantidad de fuerza.

Es concebible que procesos similares puedan ocurrir en los seres humanos durante el movimiento dentario ortodóncico cuando se utilizan fuerzas pesadas (Grünheid y cols., 2007).

Se observó también lesión celular de Odontoblastos en el grupo de ratas control, lo que podría explicarse por variaciones en el proceso de fijación de las muestras o por el excesivo desgaste que presentan en general los molares de los roedores, lo que ya ha sido reportado por otros estudios, demostrando evidentes cambios dimensionales de la cámara pulpar causados por el desgaste oclusal y la formación de dentina secundaria, y no por el MDO propiamente tal (von Böhl y cols., 2016).

A pesar de la escasa invasión de células inflamatorias, durante la fase de latencia se mantuvo una dilatación y congestión constante en los vasos sanguíneos, con una leve reducción entre el día 3 y 7, particularmente en pulpa coronal de ratas jóvenes, manteniéndose en el tiempo en ratas adultas. Estos cambios que ocurren después de la aplicación de la fuerza se han atribuido a la vasodilatación durante las etapas iniciales de los procesos inflamatorios y la

reparación de los tejidos. Se cree que los cambios posteriores son causados por el uso de la red de capilares presentes en la pulpa que no funcionan hasta que la pulpa es estimulada de alguna manera (Grünheid y cols., 2007). El impacto del movimiento en la pulpa se centra principalmente en el sistema neurovascular el cual libera neurotransmisores que pueden influir en el flujo sanguíneo, metabolismo celular y en la manifestación de dolor en los pacientes. El tipo de respuesta observada depende de la cantidad y vector de fuerza aplicada sobre el eje axial del diente, condiciones previas de vitalidad del diente, antecedentes de trauma dentoalveolar, estadio de maduración apical, entre otras variables (Rodríguez y Vanin, 2006).

La mayoría de los vasos observados en la pulpa de ratas jóvenes y adultas sin MDO correspondieron a vasos de pequeño calibre ($<500\mu\text{m}^2$), lo que coincide con las observaciones de von Böhl y cols., 2016, quienes describen la presencia de pequeños vasos sanguíneos en pulpa de dientes jóvenes y adultos sin MDO (von Böhl y cols., 2016). En los dientes con MDO el número total de vasos pulpares se reduce, tanto en jóvenes como en adultos, pero en la pulpa coronal siguen siendo más abundantes los vasos pequeños. En pulpa radicular en cambio, fueron los vasos de gran calibre ($>500\mu\text{m}^2$) los más abundantes tanto en jóvenes como en adultos. Estos trastornos circulatorios estarían en directa relación con el aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos mayor en la pulpa radicular (Robbins y cols., 2008). Se observó además la presencia de edema durante todo el periodo de latencia tanto en la pulpa coronal como radicular de ratas jóvenes y adultas, signo indicador de que existe una inflamación en la zona.

En general, tanto en ratas adultas como jóvenes se observó una reducción de fibroblastos durante la fase de latencia de MDO, siendo mayor en las ratas adultas. Se ha planteado que los fibroblastos tienen un papel inmunomodulador en el MDO y que mediarían la respuesta inflamatoria (Romer y cols., 2013), de este modo la menor reducción observada en ratas jóvenes se explicaría por el mayor potencial de respuesta que presenta este grupo ante la injuria. El aumento en el tiempo del número de células pulpares tipo fibroblastos puede estar asociado a su potencial como reparador de tejidos, e incluso a su capacidad de dar origen a otros tipos celulares, permitiendo a los tejidos recuperar su integridad funcional

tras haber sido alterados lo que es ejemplo de que en esta fase la capacidad de reparación está disminuida (Grünheid y cols., 2007).

Algunos cambios relacionados con la edad de la pulpa son la circulación e inervación, la deposición de gotitas de grasa, vacuolización odontoblástica, atrofia reticular, fibrosis pulpar, degeneración hialina, la degeneración mucoide, y la calcificación difusa (von Böhl y cols., 2016). Como muchos de los cambios relacionados con la edad de la pulpa dental describen también ser inducidos por las intervenciones de ortodoncia, la discriminación entre los dos es difícil. En un estudio de von Böhl y cols. se afirma que la aplicación de una fuerza liviana para el MDO en ratas jóvenes y adultas no da lugar a cambios de larga duración o irreversibles en los tejidos pulpares, a excepción de una tendencia hacia una mayor vascularización (von Böhl y cols., 2016) que es lo que ocurre en este trabajo. Sin embargo, los cambios pulpares por fuerzas ortodóncicas siguen siendo controversiales en la literatura y dependerían mucho de la salud periodontal, algunos estudios muestran que luego de un tratamiento ortodóncico en humanos con diferentes magnitudes de fuerza intrusivas, la pulpa dental sigue con vitalidad y no se observa necrosis (Han y cols., 2013), pero otros reportes indican que movimientos ortodóncicos extrusivos de dientes con daños severos en los tejidos periodontales aumentan el riesgo de necrosis pulpar en comparación con movimientos extrusivos en dientes no traumatizados (Bauss y cols., 2010).

CAMBIOS PERIODONTALES

Algunos cambios con la edad, descritos en el ligamento periodontal corresponden a una reducción general de la producción de matriz orgánica, una disminución de la actividad mitótica de las células y también una disminución de la cantidad de colágeno soluble (Ren y cols., 2003). Una comprensión de los efectos del envejecimiento sobre la actividad de remodelación ósea alveolar es particularmente importante con respecto al MDO que se produce en respuesta a fuerzas mecánicas (Misawa y cols., 2007). La actividad remodeladora del hueso afecta la cantidad de movimiento dentario. Experimentalmente, se ha comparado la tasa de MDO en individuos con alta y baja tasa de remodelación ósea, resultando un movimiento dentario mayor en aquellos casos con altos valores de remodelación ósea (Verna y Melsen, 2003), es por esto que se analizaron

también, los cambios en los tejidos periodontales durante la fase de latencia del MDO, en donde se observaron cambios cualitativos y cuantitativos.

La densidad de fibroblastos en el ligamento periodontal humano disminuye fisiológicamente al aumentar la edad, retardando el inicio de las respuestas fisiológicas o patológicas a procesos inducidos externamente y que requieren remodelación del ligamento periodontal, como una oclusión traumática o el MDO (Krieger y cols., 2013). Al observar los resultados de este estudio se aprecia que en la zona de presión se produce una reducción de células tipo fibroblasto en ambos grupos, mientras que en el lado de tensión, el número de células tipo fibroblasto se mantiene estable, tanto en jóvenes como en adultas. En promedio, fue el grupo de ratas jóvenes quienes presentaron la mayor cantidad de células tipo fibroblasto, respecto a esto, se puede suponer que un MDO en pacientes ancianos requiere más tiempo y debe realizarse con fuerzas más ligeras que en pacientes jóvenes, ya que se ha descubierto que los fibroblastos del ligamento periodontal pueden contribuir a la diferenciación *in vitro* de los osteoclastos (Krieger y cols., 2013). Los fibroblastos del ligamento periodontal tienen la capacidad de seleccionar, atraer a los precursores de los osteoclastos, inducir su diferenciación a osteoclastos y su adhesión a la superficie ósea. El complejo de citoquinas RANKL-RANK-osteoprotegerina (OPG) resulta crucial en este proceso. Los fibroblastos del LPD producen principalmente OPG, una molécula inhibidora de osteoclastogénesis. Sin embargo, pueden estar influenciados *in vivo* por interacciones directas o indirectas con bacterias o por carga mecánica. Gracias a estas cualidades, al tener mayor número de células tipo fibroblasto, las ratas jóvenes tendrían una resorción más rápida (Sokos y cols., 2015), lo que se condice con los resultados obtenidos con respecto al número de osteoclastos. El mayor número alcanzado es en el día 7 en las ratas jóvenes en la zona de presión aumentando en comparación al día 3. En la zona de tensión, los osteoclastos también aumentan en el tiempo. En las ratas adultas, el número disminuye en la zona de presión y aumenta en la zona de tensión, esto se ve extrapolado en la resorción del hueso alveolar, ya que en ratas jóvenes aumenta significativamente al día 7 en la zona de presión, en cambio en las ratas adultas al día 7 disminuye en la zona de presión y aumenta en la de tensión con respecto al control. El osteoclasto proviene de la línea hematopoyética del linaje monocito/macrófago,

estas células progenitoras se diferencian en un osteoclasto precursor y estas células precursoras se unen fuertemente por la interacción de la proteína DC-STAMP lo que conduce a la fusión de estas células y diferenciación hacia una célula multinucleada, la cual se puede diferenciar hacia un osteoclasto activado, que presenta la morfología antes descrita (Moreno y Contreras, 2013). Las fibras de colágeno denaturadas y los restos celulares producto de una lesión inicial deben ser resorbidos es por esto que, otra célula importante observada en el estudio, fueron los macrófagos, que al día 7 en la zona de presión resultaron significativamente mayores en número en las ratas jóvenes, indicando entonces una mayor actividad de resorción en esta zona.

A nivel del hueso alveolar se observó un menor número de osteocitos durante toda la fase de latencia en ambas zonas (presión y tensión) en ratas jóvenes versus adultas siendo incluso significativo en el lado de tensión al día 7, también los osteoplastos o lagunas vacías del hueso alveolar en las ratas adultas disminuyeron en la zona de presión así como en la de tensión al término de la fase de latencia. En el grupo de jóvenes aumentaron en el tiempo en el lado de presión y disminuyeron en el de tensión. Todos estos resultados son congruentes con los recientes reportes respecto al rol de los osteocitos en los procesos de remodelado óseo que incluyen la deformación de la matriz ósea inducida por el estrés/formación de micro-grietas y estrés por cizallamiento del flujo de fluido. El osteocito no es sólo el mecanosensor del hueso, sino que también es una célula hormonalmente sensible que traduce estímulos mecánicos en señales que modulan la actividad de los osteoblastos que forman hueso y los osteoclastos que resorben hueso, orquestando así la adaptación ósea a la carga mecánica durante el MDO (Murshid, 2017). La comprensión de estas importantes funciones de los osteocitos puede tener profundas implicaciones en el futuro tratamiento ortodóncico y en su innovación. Resultados obtenidos en un experimento realizado por Matsumoto y cols. muestran que la ablación de osteocitos resulta en un número reducido de osteoclastos durante el movimiento dentario ortodóncico. La apoptosis osteocitaria puede desencadenar la remodelación ósea estimulando la osteoclastogénesis, porque los cuerpos apoptóticos derivados de los osteocitos están asociados con potentes factores osteoclastogénicos, lo que indicaría que los

osteocitos regulan el reclutamiento de osteoclastos (Matsumoto y cols., 2013). Esto explicaría por qué la osteoclastogénesis en MDO es mayor en ratas jóvenes.

El número de osteoblastos, células especializadas responsables de la aposición ósea (Jiang y cols., 2016), se reduce en las ratas jóvenes al día 7 respecto del día 3 en la zona de presión, estos resultados coinciden con reportes donde fuerzas compresivas causaron una ligera disminución en la viabilidad celular reduciéndose significativamente después de la fuerza compresiva de alta resistencia (Nettelhoff y cols., 2016); mientras que en la zona de tensión el número se mantuvo estable. En las ratas adultas aumentaron en ambas zonas lo que podría indicar que hay una mayor aposición ósea respecto al control.

Aunque en muchos aspectos el cemento es similar al hueso, difiere de este por tener una capacidad limitada de remodelación. En el contexto del MDO, la necrosis y la hialinización en el LPD y el hueso alveolar ocurren en respuesta a la carga ortodóncica localizada inducida por la compresión vascular, isquemia y necrosis localizada con degradación celular y de elementos fibrilares y amorfos de la MEC del LPD. Posteriormente, la eliminación de los tejidos necróticos y hialinizados en la zona de compresión es realizada por macrófagos y células multinucleadas y la diferenciación de osteoclastos para resorción ósea, sin embargo, una respuesta mayor podría inducir además la diferenciación de cementoclastos/odontoclastos generando un efecto colateral dañino de resorción radicular. También es posible que el daño directo a la capa superficial del cemento sea causado por la resorción del cemento mediada por cementoclastos/odontoclastos, sin necrosis ni hialinización en los tejidos periodontales (Feller y cols., 2016), aún así, la resorción radicular es una consecuencia iatrogénica frecuente en el tratamiento de ortodoncia (Ren y cols., 2007). Roscoe y cols. consideran que existe un alto nivel de evidencia disponible para apoyar la asociación de la resorción radicular con el tratamiento de ortodoncia y al parecer existen correlaciones positivas entre el aumento de los niveles de fuerza y el aumento de la resorción radicular, así como entre el aumento de los tiempos de tratamiento y de la resorción radicular. Sin embargo, la edad del paciente no es considerada en la revisión (Roscoe y cols, 2015). Aunque se han llevado a cabo varios estudios para encontrar factores de riesgo, pocos

han sido identificados. En un estudio, se demuestra que ratas de mayor edad responden de manera diferente a un protocolo estandarizado de ortodoncia que las ratas más jóvenes, concluyendo que existen correlaciones significativas entre la resorción radicular y la velocidad, cantidad y duración del movimiento de los dientes en ratas adultas, pero no en las más jóvenes. Esto indica que en variados grupos de edad, pueden ser de importancia diferentes factores de riesgo de resorción radicular (Ren y cols., 2007). Entre el día 3 y el día 7, el cemento dentario tanto en ratas jóvenes como adultas no presentó grandes cambios. Se observó escasa resorción de las superficies. Hubo un aumento en el número de lagunas vacías en las zonas de presión en ambos grupos desde los 3 a los 7 días pero no fue estadísticamente significativo; en la zona de tensión al día 3 se observó una marcada diferencia entre jóvenes y adultas siendo significativamente mayores en las adultas, hacia el día 7 hay una disminución importante de las lagunas vacías en el grupo adulto con respecto al control y al día 3, lo que podría probar que existen lesiones tisulares debido quizás al MDO, pero al no haber gran resorción se podría decir que la fuerza aplicada no es excesiva.

Durante el proceso de reparación del cemento, las proteínas de la matriz extracelular procedentes del cemento resorbido, incluyendo fibronectina, osteopontina y osteocalcina, contribuyen al reclutamiento de precursores de cementoblastos a la superficie de la raíz y a su posterior adhesión, proliferación y diferenciación (Feller y cols., 2016). El número de cementoblastos durante la fase de latencia aumentó en la zona de tensión en ambos grupos siendo significativamente mayor en los adultos. En ratas jóvenes en la zona de presión los cementoblastos disminuyeron en número durante el experimento, mientras que en adultos aumentaron siendo estadísticamente significativo al día 7 en comparación a los jóvenes. Las líneas de crecimiento se observaron en ratas adultas durante toda la fase de latencia en ambas zonas siendo significativamente más que en jóvenes, lo que se condice con la cantidad de cementoblastos encontrados; en ratas jóvenes sólo aparecieron en la zona de tensión al día 7. En un estudio se encontró osteopontina en líneas de cemento y cementocitos de cemento celular, en cemento acelular y a lo largo de la unión dentina-cemento (Jager y cols., 2008), por lo que los cementocitos contribuyen al reclutamiento de cementoblastos y como consecuencia a la cementogénesis. Al ver los resultados

de este estudio se puede notar que al día 7 en la zona de tensión se observó una diferencia significativa en número entre jóvenes y adultas, encontrándose mayormente en jóvenes, lo que es indicativo de que estaría ocurriendo el reclutamiento de cementoblastos para la producción de cemento.

Aunque se considera que la hialinización es un efecto secundario indeseable del movimiento ortodóncico del diente, se ha prestado poca atención al propio fenómeno y a su posible relación con los niveles de tensión/deformación en el LPD y el hueso alveolar. La hialinización durante las últimas etapas del movimiento de los dientes podría, en parte, explicar las diferencias observadas clínicamente en la tasa de movimiento dentario entre diferentes pacientes (von Böhl y Kuijpers-Jagtman, 2009). Se observó en el grupo de ratas jóvenes con MDO, zonas hialinas en el lado de presión, aumentando significativamente al día 7 de la fase de latencia. En las ratas adultas se apreciaron zonas hialinas en el lado de presión y tensión también al final de esta fase, siendo estadísticamente significativas en la zona de presión respecto al control. Se sugiere que el desarrollo y la eliminación de la hialinización es un proceso en lugar de un solo evento durante el desplazamiento del diente. Esto explicaría la aparición del tejido necrótico no sólo durante la fase de latencia, sino también en la fase lineal (von Böhl y Kuijpers-Jagtman, 2009).

Las fibras periodontales se muestran en una disposición de malla con fascículos gruesos y cada fibra del LPD muestra una configuración ondulada, especialmente en el tercio medio del LPD en ratas control (Tsuge y cols., 2016). La mala inserción de estas fibras en el hueso y cemento va aumentando desde el día 3 al 7 considerablemente en ratas jóvenes en zona de presión y tensión, en cambio en las ratas adultas la mala inserción disminuye en el tiempo. Se ha descrito en animales adultos que la morfología del LPD cambia a medida que aumenta la edad, el ancho del LPD es a menudo pequeño e irregular. En adultos, las fibras de colágeno, que son los principales responsables para las propiedades mecánicas del LPD en molares de rata, son menos organizados; la producción de fibras de colágeno muestra un descenso relacionado con la edad; y las características funcionales de las células de los tejidos periodontales han sido alterados por la edad. La actividad proliferativa de envejecimiento de las células del LPD es significativamente mayor en humanos jóvenes y en ratas jóvenes. En

el estudio realizado por Ren y cols. se observó que durante la aplicación de fuerza de ortodoncia en ratas, el LPD en las regiones de presión se desorganiza y posteriormente se reorganiza. Este proceso se produce tempranamente y es más prominente en ratas jóvenes y se produce más tarde y de forma prolongada en ratas adultas (Ren y cols., 2008b).

Los vasos sanguíneos en el LPD están implicados en la regulación de la remodelación tisular durante la intervención de ortodoncia (Ren y cols., 2008a), se pudo observar en el grupo de ratas jóvenes en la zona de presión al día 7 una disminución significativa de VS respecto al control y al día 3, disminuyendo además la dilatación y congestión de estos vasos en la zona de presión en ambos grupos con el paso del tiempo, lo que se relaciona a lo encontrado en otros estudios en donde en las zonas de compresión, el LPD muestra la fuga de componentes de la sangre en el espacio extravascular, la obliteración progresiva de los vasos sanguíneos, y la ruptura de las paredes de las venas (Ren y cols., 2008a), además en jóvenes, la tendencia mostró una leve reducción en el número de VS de la zona de tensión. En las ratas adultas en cambio, se observó un aumento del número de VS en el tiempo para la zona de tensión siendo significativo en el día 7 en relación al inicio de la fase de latencia. En la literatura se describe que en las zonas de tensión, la vascularización en el LPD aumenta para que posteriormente, los precursores de osteoclastos migren desde los capilares del LPD y produzcan diversas moléculas de señalización implicadas en la remodelación tisular inducida por la fuerza (Ren y cols., 2008a).

Dado los resultados obtenidos de este estudio experimental en ratas, se acepta la hipótesis donde los cambios histomorfológicos pulpaes y periodontales son significativamente diferentes entre ratas jóvenes y adultas durante la fase de latencia del MDO.

CONCLUSIONES

En el modelo de rata presentado en este trabajo se determinó que:

1. Con el MDO, en la fase de latencia, la pulpa radicular presenta mayor desorganización y alteraciones inflamatorias que la pulpa coronal, tanto en ratas jóvenes como en adultas. La capa odontoblástica se ve severamente afectada en ambos grupos, pero estos cambios parecen ser reversibles. Existe una reducción del número de células tipo fibroblastos principalmente en ratas adultas. El número de VS se ve esencialmente afectado en ratas jóvenes, disminuyendo en la fase de latencia.
2. En el periodonto de inserción desde el día 3 al 7 la zona más afectada es la de presión en ratas jóvenes, en donde ocurre una disminución de células tipo fibroblasto, aumenta el número de zonas hialinas, disminuye el número de VS, aumenta el número de células tipo macrófago y se reduce el número de osteocitos aumentando el de osteoplastos, lo que se relaciona con el aumento del número de osteoclastos y de zonas de resorción ósea. La reacción tisular observada en las ratas adultas es menos importante que la indicada en ratas jóvenes.
3. La edad sí es un factor a considerar en el MDO durante la fase de latencia, debido a que afecta principalmente al periodonto de inserción, de manera diferente en jóvenes y en adultos; la respuesta en jóvenes es mucho más rápida encontrándose mayor número de células para la remodelación ósea y del ligamento periodontal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Association of Orthodontists. Glossary of Orthodontic Terms. [consulta: 4 mayo 2016] [En línea: <http://www.aaoinfo.org/library/research/aaoglossary>]

Barrios FA, Espina-Fereira AI, Ortega AI, Fereira JL. (2011) Histomorfometría de los cambios por envejecimiento en la pulpa dental humana, con fines forenses. *Ciencia Odontológica*; Vol. 8 No 1: 33-43.

Bartold PM, Gronthos S, Ivanovski S, Fisher A, Hutmacher DW (2015). Tissue engineered periodontal products. *Journal of Periodontal Research*; Volume 51, Issue 1: 1-15

Bauss O, Schäfer W, Sadat-Khonsari R, Knösel M (2010). Influence of orthodontic extrusion on pulpal vitality of traumatized maxillary incisors. *Journal of Endodontics*; 36(2): 203-7.

Bondemark L, Holm AK, Hansen K, Axelsson S, Mohlin B, Brattstrom V, Paulin G, Pietilä T (2007). Long-term Stability of Orthodontic Treatment and Patient Satisfaction A Systematic Review. *The Angle Orthodontist*; Vol. 77, No. 1, pp. 181-191.

Brooks P, Heckler A, Wei K, Gong SG (2011). M-CSF accelerates orthodontic tooth movement by targeting preosteoclasts in mice. *The Angle Orthodontist*; Vol 81, No 2: 277-283

Cohen S, Burns R. (2004) Vías de la Pulpa. Cap. 11, pág. 405 Estructura y funciones del complejo dentino-pulpar. Octava edición, Elsevier.

Contreras P, Palomino H, Torres-Quintana MA, (2013). Influencia de la edad en los cambios histomorfológicos pulpoperiodontales durante la fase inicial del movimiento dentario ortodóncico en ratas. Tesis de Pregrado para optar al título de Cirujano Dentista, Santiago de Chile. Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Cotran R, Kumar V, Robbins S (2008). Patología Estructural y Funcional. Capítulo 4: Trastornos hídricos y hemodinámicos. 8va Edición en Español. Editorial Elsevier.

Chiego D. (2014) Edición en español de la 4.a edición de la obra original en inglés *Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach*. Cap. 9 Pulpa dental, cap. 10 Cemento, cap. 11 Periodonto: ligamento periodontal y cap. 12 Periodonto: apófisis alveolar y cemento. Elsevier España, S.L.

- De Harfin, Julia F (2005). Tratamiento ortodóntico en el adulto. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Diekwisch TG (2001) The developmental biology of cementum. *The International Journal of Developmental Biology*; 45(5-6): 695-706.
- Farahani R, Simonian M, Hunter N (2011). Blueprint of an Ancestral Neurosensory Organ Revealed in Glial Networks in Human Dental Pulp. *The Journal of Comparative Neurology. Research in Systems Neuroscience*; 519: 3306–3326
- Feller L, Khammissa R, Thomadakis G, Fourie J, Lemmer J. Apical External Root Resorption and Repair in Orthodontic Tooth Movement: Biological Events. *BioMed Research International*; Volume 2016, Article ID 4864195, 7 pages
- Filshie RJ, Zannettino AC, Makrynika V, Gronthos S, Henniker AJ, Bendall LJ, Gottlieb DJ, Simmons PJ, Bradstock KF. (1998). Muc18, a member of the immunoglobulin superfamily, is expressed on bone marrow fibroblasts and a subset of hematological malignancies. *Leukemia*;12:414–421.
- García C, Duque Y, Llanes M, Vinent R (2011). Prevalencia de anomalías dentomaxilofaciales en los niños menores de 14 años. *Revista Ciencias Médicas*; 15(2): 65-75
- Gazit-Rappaport T, Haisraeli-Shalish M, Gazit E (2010). Psychosocial reward of orthodontic treatment in adult patients. *European Journal of Orthodontics*; 32(4): 441-6.
- Gómez de Ferrari M, Muñoz A (2002). Histología y embriología Bucodental. Cap. 8, pág. 209 Complejo dentino-pulpar I: Pulpa dental. Segunda edición. Editorial Panamericana.
- Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Dec 5;97(25):13625-30.
- Grünheid T, Morbach B, Zentner A (2007). Pulpal cellular reactions to experimental tooth movement in rats. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Journal*; Volume 104, Number 3: 434-441
- Han G, Hu M, Zhang Y, Jiang H (2013). Pulp vitality and histologic changes in human dental pulp after the application of moderate and severe intrusive orthodontic forces. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 144(4): 518-22.

Hanson A (2012). " Rat Teeth " Rat behavior and biology. [Consulta: 5 de enero 2017] [En línea: <http://www.ratbehavior.org/history.htm>]

Henneman S, Von den Hoff JW, Maltha JC. Mechanobiology of tooth movement. *European Journal of Orthodontics*; 30(3): 299-306.

Hernández F, Tavira S (2014). Ortodoncia en un paciente adulto mayor. *Revista Mexicana de Ortodoncia*; Vol. 2, Núm. 3: 196-203

Jäger A, Kunert D, Friesen T, Zhang D, Lossdörfer S, Götz W(2008). Cellular and extracellular factors in early root resorption repair in the rat. *European Journal of Orthodontics*; 30: 336–345

Javed F, Al-Kheraif A, Romanos E, Romanos G (2015). Influence of orthodontic forces on human dental pulp: A systematic review. *Archives of Oral Biology*; Volume 60, Issue 2: 347–356.

Jiang N, Guo W, Chen M, Zheng Y, Zhou J, Gyoon Kim S, Embree M, Songhee Song K, Marao H, Mao J (2016). Periodontal Ligament and Alveolar Bone in Health and Adaptation: Tooth Movement. *Frontiers of Oral Biology*; 18: 1-8.

Keinan D, Cohen RE (2013). The significance of epithelial rests of Malassez in the periodontal ligament. *Journal of Endodontics*; 39(5): 582-7.

Krieger E, Hornikel S, Wehrbein H. (2013) Age-related changes of fibroblast density in the human periodontal ligament. *Head & Face Medicine*; 9-22

Krishnan V, Davidovitch Z (2006). Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 129(4): 469e 1-32.

Lin LM, Huang GT, Rosenberg PA (2007). Proliferation of epithelial cell rests, formation of apical cysts, and regression of apical cysts after periapical wound healing. *Journal of Endodontics*; 33(8): 908-16.

Magallanes M, Carmona B, Álvarez M. (2010). Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Revista Odontológica Mexicana*; Vol. 14, Núm. 1: 15-20

Matsumoto T, Iimura T, Ogura K, Moriyama K, Yamaguchi A (2013). The Role of Osteocytes in Bone Resorption during Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Dental Research*; 92: 340-345

Maureira L, Palomino H, Torres-Quintana MA, (2010). Efecto de la edad en las características morfológicas periodontales durante el movimiento dentario

ortodóncico en ratas. Tesis de Pregrado para optar al título de Cirujano Dentista, Santiago de Chile. Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Misawa-Kageyama Y, Kageyama T, Kurihana S, Yagasaki H, Deguchi T, Ozawa H, Sahara N (2007). Histomorphometric study on the effects of age on orthodontic tooth movement and alveolar turn over in rats. *European Journal of Oral Sciences*; 115(2): 124-130.

Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S (2003). SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* May 13;100(10):5807-12.

Moe K, Kettunen P, Kvinnsland IH, Luukko K (2008). Development of the pioneer sympathetic innervation into the dental pulp of the mouse mandibular first molar. *Archives of Oral Biology*; 53: 865-873

Moreno S, Contreras A (2013). Mecanismos moleculares implicados en la destrucción ósea en la periodontitis. Revisión de la literatura. *Revisión Clínica Periodoncia Implantología Rehabilitación Oral* Vol. 6(3); 142-147, 2013.

Moura A, Taddei S, Queiroz-Junior C, Madeira M, Rodrigues L, Garlet G, Souza D, Machado F, Andrade Jr. I, Teixeira M, Silva T (2014). The relevance of leukotrienes for bone resorption induced by mechanical loading. *Bone* 69; 133–138

Murshid SA (2017). The role of osteocytes during experimental orthodontic tooth movement: A review. *Archives of Oral Biology*; 73: 25–33

Nanci A (2008). Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function. Capítulo 8, Pág. 191 Complex Dentin-Pulp. Séptima edición, Elsevier.

Nettelhoff L, Grimm S, Jacobs C, Walter C, Pabst AM, Goldschmitt J, Wehrbein H (2016). Influence of mechanical compression on human periodontal ligament fibroblasts and osteoblasts. *Clinical Oral Investigation*; 20(3):621-9.

Niklas A, Proff P, Gosau M, Römer P (2013). The Role of Hypoxia in Orthodontic Tooth Movement. *International Journal of Dentistry*; Article ID 841840, 7 pages.

Nogueira A, de Molon R, Nokhbehshaim M, Deschner J, Cirelli J (2017). Contribution of biomechanical forces to inflammation-induced bone resorption. *Journal of Clinical Periodontology*; 44: 31–41.

Pachêco-Pereira C, Pereira JR, Dick BD, Perez A, Flores-Mir C (2015). Factors associated with patient and parent satisfaction after orthodontic treatment: a systematic review. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 148(4): 652-9.

Palomares NB, Celeste RK, Oliveira BH, Miguel JA (2012). How does orthodontic treatment affect young adults' oral health-related quality of life? *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 141(6): 751-8.

Papadopoulou A, Iliadi A, Eliades T, Kletsas D (2016). Early responses of human periodontal ligament fibroblasts to cyclic and static mechanical stretching. *European Journal of Orthodontics*; 1-6

Pereira LB, Sasso A, Sasso A, Sasso MB, de Moraes A (2010). Effects of Low-Level Laser Therapy and Orthodontic Tooth Movement on Dental Pulp in Rats. *The Angle Orthodontist*; Vol. 80, No. 1: 116-122.

Persson RE, Persson GR (2005). The Elderly at Risk for Periodontitis and Systemic Diseases. *Dental Clinics of North America*; 49: 279–292.

Ren Y, Maltha JC, Van 't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM (2003). Age effect on orthodontic tooth movement in rats. *Journal of Dental Research*; 82(1):38-42.

Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM (2004). The rat as a model for orthodontic tooth movement - a critical review and a proposed solution. *European Journal of Orthodontics*; 26: 483-490

Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM (2007). Tooth movement characteristics in relation to root resorption in young and adult rats. *European Journal of Oral Sciences*; 115: 449–453.

Ren Y, Maltha JC, Stokroos I, Liem RS, Kuijpers-Jagtman AM (2008a). Effect of duration of force application on blood vessels in young and adult rats. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 133(5): 752-7.

Ren Y, Maltha JC, Stokroos L, Liem RS, Kuijpers-Jagtman AM (2008b). Age-related changes of periodontal ligament surface areas during force application. *The Angle Orthodontist*; 78(6):1000-5.

Rincon JC, Young WG, Bartold PM. (2006). The epithelial cell rests of Malassez-a role in periodontal regeneration? *Journal of Periodontal Research*; 41(4): 245-52.

Rodríguez C, Vanin D (2006). Effects of orthodontic teeth movement on dental pulp: a review. *Revista Estomatología*; 14(1):27-29

Romanos GE, Bernimoulin JP (1990). Collagen as a basic element of the periodontium: immunohistochemical aspects in the human and animal. 1. Gingiva and alveolar bone. *Parodontol.*;1(4):363-75.

Römer P, Wolf M, Fanghänel J, Reicheneder C, Proff P (2013). Cellular response to orthodontically-induced short-term hypoxia in dental pulp cells. *Cellular Tissue Research*. DOI 10.1007/s00441-013-1739-y

Roscoe MG, Meira JB, Cattaneo PM (2015). Association of orthodontic force system and root resorption: A systematic review. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 147(5):610-26.

Sanen K, Martens W, Georgiou M, Ameloot M, Lambrichts I, Phillips J (2017). Engineered neural tissue with Schwann cell differentiated human dental pulp stem cells: potential for peripheral nerve repair?. *Journal Of Tissue Engineering And Regenerative Medicine*. DOI: 10.1002/term.2249

Sengupta P (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*; 4(6): 624–630.

Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. (2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*; 364(9429): 149-55.

Shimpo S, Horiguchi Y, Nakamura Y, Lee M, Oikawa T, Noda K, Kuwahara Y, Kawasaki K (2003). Compensatory bone formation in young and old rats during tooth movement. *European Journal of Orthodontics*; 25: 1-7.

Simon SR, Berdal A, Cooper PR, Lumley PJ, Tomson PL, Smith AJ (2011). Dentin-pulp complex regeneration: from lab to clinic. *Advances in Dental Research*; 23(3): 340-5.

Sokos D, Everts V, de Vries TJ (2015). Role of periodontal ligament fibroblasts in osteoclastogenesis: a review. *Journal of Periodontal Research*; 50: 152–159.

Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, Huang GT. (2008) Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of Endodontics*; 34(2):166-71.

Sprogar S, Meh A, Vaupotic T, Drevenšek G, Drevenšek M (2010). Expression levels of endothelin-1, endothelin-2, and endothelin-3 vary during the initial, lag, and late phase of orthodontic tooth movement in rats. *European Journal of Orthodontics*; 32: 324–328

Tokuda M, Tatsuyama S, Fujisawa M, Morimoto-Yamashita Y, Kawakami Y, Shibukawa Y, Torii M (2015). Dentin and pulp sense cold stimulus. *Medical Hypotheses*; 84: 442–444

- Tripuwabhut P, Brudvik P, Fristad I, Rethnam S (2010). Experimental orthodontic tooth movement and extensive root resorption: periodontal and pulpal changes. *European Journal of Oral Science*; 118: 596–603.
- Trubiani O, Orsini G, Zini N, Di Iorio D, Piccirilli M, Piattelli A, Caputi S. (2008). Regenerative potential of human periodontal ligament derived stem cells on three dimensional biomaterials: a morphological report. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*; 87:986–993.
- Tsuge A, Noda K, Nakamura Y (2016). Early tissue reaction in the tension zone of PDL during orthodontic tooth movement. *Archives of Oral Biology*; 65: 17–25
- Vargas del Valle P, Piñeiro Becerra MS, Palomino Montenegro H, Torres-Quintana MA (2010). Factores modificantes del movimiento dentario ortodóncico. *Avances en Odontoestomatología*; Vol. 26 - Núm. 1: 45-53
- Verna C, Melsen B (2003). Tissue reaction to orthodontic tooth movement in different bone turnover conditions. *Orthodontics and Craniofacial Research*; 6: 155–163.
- Von Böhl M, Kuijpers-Jagtman AM (2009). Hyalinization during orthodontic tooth movement: a systematic review on tissue reactions. *European Journal of Orthodontics*; 3: 30–36
- Von Böhl M, Ren Y, Kuijpers-Jagtman AM, Fudalej PS, Maltha JC (2016). Age-related changes of dental pulp tissue after experimental tooth movement in rats. *PeerJ*; 4: e1625.
- Wahl N (2005). Orthodontics in 3 millennia. Chapter 1: Antiquity to the mid-19th century. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*; 127 (2): 255-9.
- Xiong J, Gronthos S, Bartold PM (2013). Role of the epithelial cell rests of Malassez in the development, maintenance and regeneration of periodontal ligament tissues. *Periodontology 2000*; 63(1): 217-33.
- Yen AH, Yelick PC. (2011). Dental tissue regeneration - a mini- review. *Gerontology*; 57(1): 85-94.
- Zainal Ariffin SH, Yamamoto Z, Zainol Abidin IZ, Megat Abdul Wahab R, Zainal Ariffin Z (2011). Cellular and molecular changes in orthodontic tooth movement. *The Scientific World Journal*; 11: 1788-803.
- Zmijewskaa C, Surdyk-Zasadaa J, Zabel M (2003). Development of innervation in primary incisors in the foetal period. *Archives of Oral Biology*; 48: 745-752.

ANEXOS

ANEXO 1: CERTIFICADO DE APROBACIÓN ÉTICA



CASILLA 233
SANTIAGO 1 – CHILE
FONOS: 56 (2) 978 1697 / 2922

Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Comisión de Bioética

Santiago, 4 de octubre de 2013

Dr. Hernán Palomino Montenegro
Facultad de Odontología
Universidad de Chile
Presente:

Estimado Dr. Palomino:

La Comisión de Bioética de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, ha analizado desde el punto de vista bioético, el Proyecto titulado: "INFLUENCIA DE LA EDAD EN LOS CAMBIOS HISTOMORFOLÓGICOS PULPOPERIODONTALES DESPUÉS DE MOVIMIENTO DENTARIO ORTODÓNICO EN RATAS.

El principal objetivo del proyecto es determinar si existen variaciones en las características histológicas (morfológicas y morfométricas) en el tejido pulpar y periodontal incluyendo el hueso alveolar y la superficie radicular de molares maxilares en la fase inicial, mediata y tardía del movimiento dentario ortodónico entre ratas jóvenes y adultas.

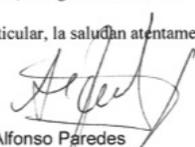
El informe de la Comisión es el siguiente:

De acuerdo al estudio propuesto y análisis del proyecto y protocolo de manejo y cuidado de animales de Laboratorio, se justifica el estudio con animales. Se informa adecuadamente el cálculo estadístico para la determinación del número de animales a utilizar en cada objetivos del proyecto, el que se desarrollará en 2 años. En total se utilizarán 60 ratas de la cepa Sprague Dawley. El Investigador responsable hace una descripción detallada de las condiciones en las que se realizará el estudio (lugar, manejo de los animales, dosis de anestesia, equipo, técnicos), además describe el procedimiento de eutanasia y disposición de los cadáveres al término del procedimiento. Se indica que la persona encargada de la atención de los animales será la Médica Veterinaria Fernanda Schäufler con vasta experiencia en el manejo y cuidado de los animales.

El Dr. Palomino modificó el protocolo presentado de acuerdo a las sugerencias del Comité de Bioética y certifica que la investigación propuesta no constituye una duplicación innecesaria de investigaciones previas; que todas las personas trabajarán de acuerdo con las normas y reglas éticas vigentes nacionales e internacionales; que ha revisado la literatura científica y base de datos pertinentes sin encontrar procedimientos válidos alternativos; que los antecedentes presentados en este Protocolo incluyen la totalidad de los procedimientos con animales propuestos en el Proyecto y que se compromete a solicitar y obtener la aprobación del Comité de Bioética sobre Investigación en antes de iniciar cualquier cambio al Protocolo aprobado, sea de procedimientos como de personal.

Analizados el Proyecto y Protocolo de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio, la Comisión aprobó el Proyecto y protocolo, código CBE2013-12.

Sin otro particular, la saludan atentamente,


Dr. Alfonso Paredes
Secretario
Comisión de Bioética



Dr. Carolina Delporte V.
Presidenta
Comisión de Bioética

ANEXO 2: CERTIFICADO DE INSCRIPCIÓN DE PROYECTO PRI-ODO 13/005 Y AUTORIZACIÓN DE EXTENSIÓN



CARTA CERTIFICADO DE INSCRIPCIÓN DE PROYECTO PRI-ODO

Santiago, octubre 18 de 2013

DIFO N° 0138/2013
Mat. Asignación Código PRI-ODO

Señor
Dr. Hernán Palomino Montenegro
Departamento del Niño y ODM
PRESENTE

Estimado doctor Palomino:

Me permito informar a usted que con fecha de registro de inscripción, **18 de octubre de 2013**, se ha recepcionado el documento Proyecto de Investigación titulado: **"Influencia de la Edad en los Cambios Histomorfológicos Pulpoeriodontales después de Movimiento Dentario Ortodóncico en Ratas"**, del Investigador Responsable: **Hernán Palomino Montenegro** del Departamento del Niño y ODM y de los co-investigadores:

- | | | |
|----|---------------------------------------|----------------------|
| 1. | Dra. María Angélica Torres Valenzuela | Investigador Alterno |
| 2. | Dra. Montserrat Reyes | Co Investigador |
| 3. | Dra. Paula Rojas | Co Investigador |

Dicho proyecto ha recibido el siguiente código de inscripción en la Dirección de Investigación:

PRI-ODO 2013 PRI-ODO 13/005

Este proyecto cuenta con:

1. Carta del Director de Departamento (Inv. Responsable)	Si	No	N/A
2. Certificado de aprobación del Comité de Ética de la Facultad	Si	No	N/A
3. Certificado de aprobación del Comité de Bioseguridad	Si	No	N/A

A partir de la fecha de registro de este proyecto, se deberá considerar el periodo de duración del mismo, por lo tanto el día:

Fecha entrega Informe Final:	18 de octubre de 2015
------------------------------	-----------------------

Usted deberá hacer llegar a la Dirección de Investigación el Informe final del proyecto en el formulario ad-hoc.

Para obtener el formulario de informe final de proyecto, visite la página Web de la Facultad y el enlace de investigación: <http://odontologia.uchile.cl/investigación/formularios>.

Saluda atentamente a usted,



Dr. GONZALO RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Director de Investigación

Distribución:

Original: Dr. Hernán Palomino Montenegro
Copia: Dra. María Angélica Torres Valenzuela
Dra. Montserrat Reyes
Dra. Paula Vargas
Prof. Dra. Gisela Zillmann Geerds
Dr. Gonzalo Rojas Alcayaga
GRM / cmg

Investigador Responsable
Investigador Alterno
Co Investigador
Co Investigador
Directora Departamento del Niño y ODM
Director Departamento de Patología y Medicina Oral



Santiago, agosto 4 de 2016
DIFO N° 006/2016
Mat.: Autoriza extensión proyecto PRI-ODO

Señora
Dra. María Angélica Torres S.
Investigador Responsable
Proyecto PRI-ODO 13/005
Presente

Estimada Dra. Torres:

En respuesta a su carta de fecha 13 de julio de 2016 donde solicita prórroga del Proyecto PRI-ODO 13/005 hasta diciembre del presente año, informo a usted que su solicitud se encuentra autorizada, por lo que el plazo de término del proyecto es el 30 de diciembre de 2016.

Sin otro particular, saluda atentamente a usted,

Dra. Andrea Paula-lima
Directora de Investigación (s)



ACP-cfc

