

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Medicina y Cirugía



TESIS DOCTORAL

**Posible papel del óxido nítrico y otros mediadores
inflamatorios en la erupción dental canina**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Antonio Nicolás Jiménez Socorro

Directores

Fidel San Román Ascaso

Lisa Rancán

Mercedes Sánchez de la Muela

Madrid, 2017



U N I V E R S I D A D
COMPLUTENSE
M A D R I D

FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Medicina y Cirugía

**POSIBLE PAPEL DEL ÓXIDO
NÍTRICO Y OTROS MEDIADORES
INFLAMATORIOS EN LA
ERUPCIÓN DENTAL CANINA**

TESIS DOCTORAL

DIRECTORES:

Dr. Fidel San Román Ascaso

Dra. Lisa Rancan

Dra. Mercedes Sánchez de la Muela

AUTOR:

Antonio Nicolás Jiménez Socorro

MADRID, 2015



U N I V E R S I D A D
COMPLUTENSE
M A D R I D

FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Medicina y Cirugía

***POSIBLE PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO Y OTROS
MEDIADORES INFLAMATORIOS EN LA ERUPCIÓN
DENTAL CANINA***

Memoria presentada por

Antonio Nicolás Jiménez Socorro

para la obtención del grado de Doctor

VºBº Directores:

**Dr. Fidel
San Román Ascaso**

**Dra. Lisa
Rancan**

**Dra. Mercedes
Sánchez de la Muela**

Dr. Fidel San Román Ascaso, Catedrático de Universidad del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, **Dra. Lisa Rancan**, Doctora en Ciencias Biomédicas e Investigadora contratada del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y **Dra. Mercedes Sánchez de la Muela**, Profesora Titular del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que D. Antonio Nicolás Jiménez Socorro, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo “Posible papel del Óxido Nítrico y otros mediadores inflamatorios en la erupción dental canina” y que hallándose concluido, autorizamos su presentación a fin de que sea juzgado por el tribunal correspondiente.

VºBº Directores:

**Dr. Fidel San Román
Ascaso**

**Dra. Lisa
Rancan**

**Dra. Mercedes
Sánchez de la Muela**

Agradecimientos

A mis directores de Tesis: Al profesor Dr. Fidel San Román, porque ha conseguido despertar el interés de muchos veterinarios como yo por la odontología y por la especialización, contribuyendo enormemente a dignificar nuestra profesión. A la Dra. Lisa Rancan que ha sido quien ha llevado a cabo la parte laboratorial de esta Tesis, ayudádome a entender los complejos mecanismos de la biología molecular. A la profesora Dra. Mercedes Sanchez, que ha sido un referente de trabajo en la Facultad de veterinaria y ha sido pionera en la investigación molecular en pequeños animales.

A la profesora Dra. Elena Vara Ameigeiras, catedrática del Departamento de bioquímica y Biología Molecular III de la Facultad de Medicina de la UCM, por favorecer y ayudar a crear estos trabajos de investigación, en colaboración con la facultad de veterinaria.

Al profesor Dr. Jesús Rodríguez Quirós, de quien tanto he aprendido y a quien tanto debo, es un ejemplo a seguir de interés por hacer las cosas bien, de esfuerzo, trabajo y superación.

A mi querido amigo y compañero Juan Manuel Martín Olías-Díez, que me dio la oportunidad de aprender junto a él. Su buen hacer profesional y todo lo que me enseñó, marcó el rumbo de mi vida como veterinario clínico.

A mi colega de trabajo, Seila Barrajón Moreno, por ayudarme en la clínica a diario y por colaborar en la toma y procesado de muestras para este trabajo.

A la profesora Dra. Concepción Rojo Salvador, a la profesora Dra. María Pilar Llorens Pena, a la profesora Dra. Paloma Garcia, al profesor Dr. Juan Ignacio Trobo, al profesor Jesús María Sanchez, al profesor Dr. Julio Contreras Rodríguez, a mi compañera y profesora Dra. María Encina Gonzalez Martínez, a mi compañero y profesor Dr. Joaquín Goyache Goñi y a otros colegas y profesores de la Facultad, de los que he aprendido mucho y a los que también estoy muy agradecido.

A mis padres, que me dieron la oportunidad de estudiar lo que quería, tan lejos, con un importante esfuerzo económico y sentimental.

A mis hermanos Juan Carlos, Marisol y Francisco José, a los que siempre tengo conmigo a pesar de la distancia.

A Jose López, por su paciencia, ayudándome y enseñándome utilidades y herramientas informáticas que han sido de gran utilidad en la elaboración de esta Tesis.

A mis hijas María y Laura, y a mi esposa Gloria, por tener que soportarme cada día y por haberme ayudado tantísimo. Sin ellas esto no hubiese sido posible.

A Francisco Javier García Liras, Curro, a quien siempre estaré muy agradecido y siempre llevaré en mi corazón. Curro fué un excelente veterinario y mejor persona. A él y a sus padres Javier y Cristina quiero dedicar esta Tesis, desde el convencimiento de que el hubiera sido un excelente Doctor.

Índice

1. Resumen	1
1.1. Resumen	3
1.2. Summary	5
2. Introducción	7
2.1. Introducción general	9
2.2. Anatomía	12
2.3. Odontogénesis	20
2.4. Características dentales del perro	29
2.5. La erupción en el perro.....	32
2.6. Denticiones del perro.....	35
2.7. Anomalías y alteraciones de la erupción y exfoliación	37
2.8. Mecanismos moleculares de la erupción dental.....	53
2.9. Bioquímica oral.....	59
2.10. Mediadores inflamatorios y estrés oxidativo.....	70
3. Hipótesis y objetivos	79
4. Materiales y métodos	83
4.1. Animales.....	85
4.2. Toma de muestras.....	88
4.3. Determinaciones realizadas y métodos:.....	90
4.4. Expresión de citoquinas (TNF- α , TGF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10), nitrato sintasas (eNOS, iNOS), hemo oxigenasas (HO-1, HO-2)	92
4.5. Análisis estadístico:	93
5. Resultados	95
5.1. Suero	97
5.2. Saliva.....	105
5.3. Encía	113
6. Discusión	121
7. Conclusiones	127
8. Bibliografía	131

Índice de figuras

Fig. 1: Cráneo y mandíbula de perro (izq.) y lobo gris (der.) (Wang et al, 2008).....	10
Fig. 2: Esquema de los tejidos dentales y peri dentales (Gómez de Ferraris, 2009)	12
Fig. 3: Esquema de numeración dentaria del Sistema Triadan (Crossley, 2002)	19
Fig. 4: Esquema de la formación del diente (Thomas Aberg en Thesleff, 1997).....	20
Fig. 5: Esquema de Katchburian E. y Arana V., 2012.	21
Fig. 6: Corte Histológico al MO de un brote dental (Katchburian E. y Arana V., 2012).	22
Fig. 7: Esquema del paso de brote a Fase de Caperuza o Casquete (Katchburian y Arana, 2012).....	23
Fig. 8: Corte histológico de un germen dental en estadio de Casquete (Katchburian y Arana, 2012).....	23
Fig. 9: Micropreparación histológica mostrando un brote dental, en estadio de campana temprana (Katchburian y Arana, 2012).	24
Fig. 10: Estado de campana y su relación con la lámina dentaria (Katchburian y Arana, 2012).	24
Fig. 11: Estado de Corona (Foto con MO tomada de Katchburian y Arana, 2012).	25
Fig. 12: Esquema fase de Corona (Katchburian y Arana, 2012).	25
Fig. 13: MO de corte histológico de germen dentario en estado de corona donde se pueden apreciar los tejidos mineralizados y la vaina de Hertwig (Manisagian, 2012). ...	27
Fig. 14: Esquema anatómico de erupción preoclusal (Barbería Leache, 2001).	28
Fig. 15: Vista lateral de los maxilares del perro (Rouge, 2003).	29
Fig. 16: Vista oclusal de la disposición dentaria en el maxilar superior (Rouge, 2003)..	30
Fig. 17: Tabla de la cronología de la dentición canina y felina (Belows, 2011).	35
Fig. 18: Yorkshire terrier con dientes de leche retenidos.	40
Fig. 19: Detalle de mordida cruzada anterior.....	48
Fig. 20: Lingualización de canino inferior permanente.	49
Fig. 21: Esquema de Thesleff y Sharpe, 1997.	54
Fig. 22: Toma de muestra de saliva	88
Fig. 23: Toma de muestra de encía.....	89
Fig. 24: Valores de NO en suero de los grupos de estudio.	97
Fig. 25: Valores de CO en suero de los grupos de estudio.	98
Fig. 26: Valores de TGF en suero de los grupos de estudio.	99
Fig. 27: Valores de IL-1 en suero de los grupos de estudio.	100
Fig. 28: Valores de TNF en suero de los grupos de estudio.	101

Fig. 29: Valores de IL-6 en suero de los grupos de estudio	102
Fig. 30: Valores de IL-8 en suero de los grupos de estudio.	103
Fig. 31: Valores de IL-10 en suero de los grupos de estudio.	104
Fig. 32: Valores de NO en la saliva de los grupos de estudio.	105
Fig. 33: Valores de CO en la saliva de los grupos de estudio.	106
Fig. 34: Valores de TGF en la saliva de los grupos de estudio.	107
Fig. 35: Valores de IL-1 en la saliva de los grupos de estudio.	108
Fig. 36: Valores de TNF en la saliva de los grupos de estudio.	109
Fig. 37: Valores de IL-6 en la saliva de los grupos de estudio.	110
Fig. 38: Valores de IL-8 en la saliva de los grupos de estudio.	111
Fig. 39: Valores de IL-10 en la saliva de los grupos de estudio.	112
Fig. 40: Expresión de eNOS en la encía de los grupos de estudio.	113
Fig. 41: Expresión de iNOS en la encía de perros de los grupos de estudio.	114
Fig. 42: Expresión de HO-1 en la encía de los grupos de estudio.	115
Fig. 43: Expresión de HO-2 en la encía de los grupos de estudio.	116
Fig. 44: Expresión de IL-1 en la encía de los grupos de estudio.	117
Fig. 45: Expresión de TNF en la encía de los grupos de estudio.	118
Fig. 46: Expresión de IL-6 en la encía de los grupos de estudio.	119

1. Resumen

1.1. Resumen

Los perros, tienen una dentadura difiodonta, y por lo tanto, presentan la erupción y el desarrollo de dos denticiones separadas en el tiempo: una primera de leche o decidua, y posteriormente se produce un complejo proceso de renovación de la dentición, en el que se pierden los dientes de leche, mientras se produce la erupción de los permanentes o definitivos. Este complejo proceso de cambio de dentición ha sido estudiado para tratar de comprender los mecanismos íntimos que determinan el momento y la concatenación de cambios moleculares, celulares y enzimáticos que influyen en el mismo.

La presencia de una gran variedad de mediadores inflamatorios locales y células inflamatorias ha sido descrita en la cavidad oral en humanos y équidos, así como su influencia en el cambio de dentición en la especie humana y en la especie equina. Sin embargo, el papel de estos mediadores en la patología oral canina es poco conocido.

El objetivo de este trabajo es determinar la presencia de diferentes clases de mediadores inflamatorios en saliva, plasma y encía de perros, así como la posible variación de los niveles de estos durante la erupción dental y su posible influencia en la retención de dientes deciduos en el perro.

Para ello, se han incluido en el estudio 44 perros que se dividieron en tres grupos:

- **Grupo 1:** Perros con cambio normal de la dentición (*cambiando*, n=7).
- **Grupo 2:** Perros con retención de los dientes de leche (*retenidos*, n= 15).
- **Grupo 3:** Perros sanos con dentición permanente (*control*, n=22).

Del total de muestras recogidas, 32 fueron pertenecientes a la raza Yorkshire terrier, 8 a la raza cocker spaniel y 4 a labrador retriever, como modelos de razas pequeñas, medianas y grandes respectivamente.

El total de perros con dientes de leche “retenidos” analizados fueron pertenecientes a la raza yorkshire terrier.

En todos ellos, se tomaron muestras de saliva no estimulada, que se guardó congelada hasta la posterior determinación de citoquinas (IL1, IL6, IL8, IL10, de proteínas reguladoras: Factor de crecimiento transformante, del Inglés “Transforming Growth Factor” (TGF) y el factor de Necrosis Tumoral, del Inglés “Tumor Necrosis Factor” (TNF), el óxido nítrico (NO) y el monóxido de carbono (CO).

En todos los perros se tomó también una muestra de suero, mediante centrifugado de muestra sanguínea, para la determinación de los niveles de las mismas sustancias. También se tomó un pequeño fragmento de encía para la determinación de la expresión de las enzimas oxido-reductasas: eNOS e iNOS, de las hemo oxigenasas HO-1, HO-2, del TNF y de interleuquinas (IL1, IL6).

Se obtuvieron niveles muy significativamente más elevados en saliva de NO en el grupo de perros durante el cambio de dentición que en el resto de grupos. Y a su vez significativamente menor en los perros con dientes de leche retenidos con respecto al grupo control de perros con dentadura definitiva normal. El TGF, TNF y las Interleuquinas IL1 e IL8 en saliva del Grupo 1 (cambiando) fueron muy significativamente o significativamente más elevados que en el resto de grupos.

En suero, los valores del óxido nítrico fueron significativamente más bajos en los perros con dientes retenidos que en el grupo control. En el resto de citoquinas, la diferencia de valores en suero no fue significativa para la mayoría de ellas.

La expresión en encía del TNF, eNOS, HO1 y la IL1 para los perros durante el cambio de dentición, fueron muy significativamente o significativamente mayores que para el resto de grupos. También la expresión de iNOS fue significativamente mayor en los perros durante el cambio de dentición que en el grupo control.

Nuestros resultados muestran que los niveles de TNF, TGF, NO y de las interleuquinas IL1 e IL8 pueden influir en la erupción dental canina. Sugieren la posibilidad de que futuros estudios puedan desarrollar la manipulación de la erupción dental a través de la intervención farmacológica del NO, TNF, TGF y de las interleuquinas, ofreciendo un nuevo panorama para la terapia de afecciones que involucran las alteraciones de la erupción dental.

1.2. Summary

Dog is a difiodontic specie. It means that they have two diferent dentitions along chronological age. First deciduous teeth erupts and later, eruption of permanents teeth occurs while the deciduous teeth are exfoliated. The complex process of dental replacement has been investigated by many diferent authors, trying to dilucidate the molecular mechanisms and the concatenation of molecular, celular and enzymatic changes that are involved and regulates this event.

A great variety of inflammatory mediators and inflammatory cells have been described in oral cavity in humans and horses, and their relationship with dental eruption in human specie, but it is unknown which is the role of this mediators in oral canine pathology

The aim of this study is to determinate the presence of different classes of inflammatory mediators in saliva, plasma, and gum of the mouth, as well as the level variation during dental eruption and its influence in dental deciduous retention in dogs.

For this purpose, 44 dogs divided in three groups:

- **Group 1:** Dogs with normal teeth eruption (*eruption*, n=7).
- **Group 2:** Dogs with retained deciduous teeth (*impacted*, n= 15).
- **Group 3:** Healthy dogs with permanent teeth (*control*, n=22).

From the total of samples, 32 of them were from Yorkshire Terrier, 8 from Cocker Spaniel and 4 from Labrador Retriever breed, as models of small, medium and large breeds respectively. All the dogs with retained deciduous teeth were Yorkshire Terriers.

In all of them, no stimulated total saliva was taken and kept frozen until cytokine determination (IL1, IL6, IL8, IL10) and regulators proteins: Transforming Growth Factor (TGF) and Tumor Necrosis Factor, Nitric oxide (NO) and Carbon monoxide (CO).

Also, sanguineous serum were taken by blood centrifugation process, to determinate the same parameters as in saliva.

A little piece of gum was taken to determinate the expression of the oxide reductasas enzymes (eNOS and iNOS), Heme oxygenases enzymes (HO-1 and HO-2), TNF and interleukines (IL1, IL6).

The results showed that saliva NO levels were very significantly higher in dogs with tooth eruption than in other groups. At the same time, NO levels were significantly lower in dogs with impacted teeth than in control dogs with normal permanent teeth. TGF, TNF and the IL1 and IL8 in saliva of the Group 1 (*eruption*) were very significantly or significantly higher that in the rest of the groups.

NO levels in serum were lower in the impacted teeth group than in the control group. The levels of the other cytokines in serum were no significant for most of them.

TNF, eNOS, HO1 and IL1 expressions in gum where very significantly or significantly higher in eruption group than in the rest of the groups. Also iNOS expression was significantly higher in the eruption group than in the control group.

Our results showed that TNF, TGF, NO, IL1 and IL8 Interleukins levels may influence in dog tooth eruption. They suggest the possibility of future studies wich could developpe the manipulating of tooth eruption by pharmacological intervention of NO, TNF, TGF and Interleuquines, offering a new outlook for the therapy of syndromes involving alterations on tooth eruption.

2. Introducción

2.1. Introducción general

El perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) o también llamado *can*, es un mamífero carnívoro de la familia de los cánidos.

El orden carnívoro, del latín *carnis* (carne) y *worare* (deborador), incluye todos los mamíferos que presentan una pareja de afilados dientes carnívoros, formadas por el cuarto premolar superior y el primer molar inferior. Todos los miembros de este orden descienden de un ancestro común que poseía esta característica.

Los mamíferos ancestrales vivieron durante el Mesozoico bajo la sombra de los dinosaurios (hace 248 a 65 millones de años). Se trataba de animales del tamaño de ratas y ocasionalmente del tamaño de un perro que se atrevían a cazar pequeños dinosaurios (Wang et al, 2008).

Los auténticos carnívoros, miembros del orden carnívora, aparecieron durante un corto periodo de tiempo durante el cretáceo terciario y se extinguieron hace unos 65 millones de años (Wang et al, 2008).

El primer carnívoro en aparecer en el Paleolítico temprano (hace 65 a 60 millones de años) se encontró en Norte América, pertenecía a la familia *viverravidae* y fue el primero en presentar un auténtico par de dientes carnívoros.

El perro actual desciende del lobo gris (*Canis lupus*, **Fig. 1**) (Wang et al, 2008). El cráneo y los dientes del perro doméstico han disminuido de tamaño con relación al lobo al no necesitar matar presas de gran tamaño. Así mismo, al pasar de una dieta de carne a una constituida por los desechos provenientes de la alimentación de los humanos, los canes han desarrollado cerebros más pequeños que requieren menos calorías y menos proteínas para su crecimiento y sustento.

Las piezas dentarias de los cánidos son las menos modificadas durante la evolución de todos los carnívoros. Actualmente presenta una dentadura decidua compuesta por 28 piezas con la siguiente fórmula: Incisivos 3/3, caninos 1/1, premolares 3/3 y molares 0/0 y una dentadura permanente compuesta por 42 piezas con la siguiente fórmula: Incisivos 3/3, caninos 1/1, premolares 4/4 y molares 2/3 .

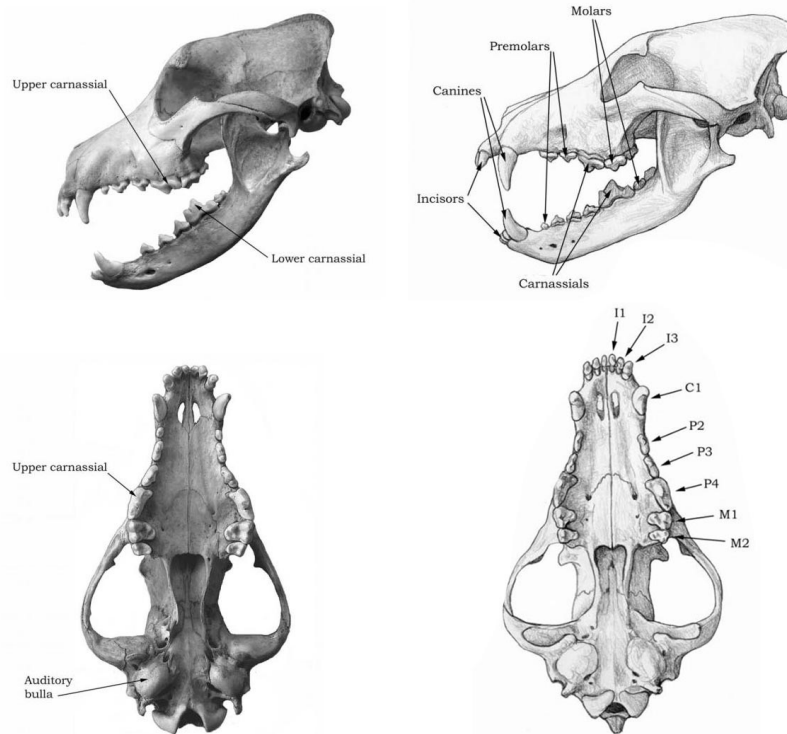


Fig. 1: Cráneo y mandíbula de perro (izq.) y lobo gris (der.) (Wang et al, 2008)

En el cachorro, la dentición decidua debería estar completamente reemplazada por la permanente a los 6 meses de edad; la retención de los dientes deciduos puede ocasionar problemas como quistes, fístulas, abscesos dentarios, desviación de las piezas permanentes (dando lugar a mal oclusiones bucales) o halitosis debido al acúmulo de placa y restos de comida en las piezas retenidas. Los caninos son las piezas más comúnmente retenidas.

Debido a los problemas que ocasionan, estos dientes retenidos deben extraerse. Con frecuencia, la extracción de los dientes deciduos retenidos puede dar lugar a una serie de complicaciones, como son la fractura de la raíz del diente deciduo y la consecuente retención parcial de la misma dentro del hueso alveolar. A su vez, los restos radiculares deciduos retenidos en algunos casos, pueden causar infección y producir fístulas dentarias. Para poder llevar a cabo la extracción completa de las raíces deciduas, con frecuencia es preciso realizar un colgajo mucogingival para acceder a la raíz, pudiéndose lesionar además el germe dentario del diente permanente que se encuentra en íntimo contacto con las raíces deciduas, lo que a su vez podría derivar en otras alteraciones como hipoplasia del esmalte. Todas estas circunstancias hacen que las alteraciones de la erupción dentaria y en especial la retención de dientes deciduos, tengan una gran importancia, así como el estudio de los mecanismos íntimos por los que se producen y de aquellas sustancias que los alteran

El objetivo de este estudio es determinar la presencia de diferentes clases de mediadores inflamatorios en saliva, plasma y encía de perros, así como la posible variación de los niveles de estos durante la erupción dental y su posible influencia en la retención de dientes deciduos en el perro.

2.2. Anatomía

El diente (**Fig. 2**) es la única parte del cuerpo mineralizada que se expone al exterior a través de la boca. Presenta una parte sobre la **encía** o **corona** y otra porción bajo la misma o **raíz**. La **corona** se encuentra recubierta por el material más duro del cuerpo, que es el esmalte. La raíz en cambio se encuentra recubierta externamente por el cemento, el cual se une al hueso que lo rodea (**hueso alveolar**) por medio de unas fibras llamadas **ligamentos periodontales**. El diente a su vez, presenta una zona interior compuesta por tejidos blandos, la **pulpa**, a través de la cual llega el sistema vascular y nervioso del diente. La pulpa se encuentra a su vez rodeada por la **dentina**. La dentina es la sustancia que limita y conforma la cavidad pulpar.

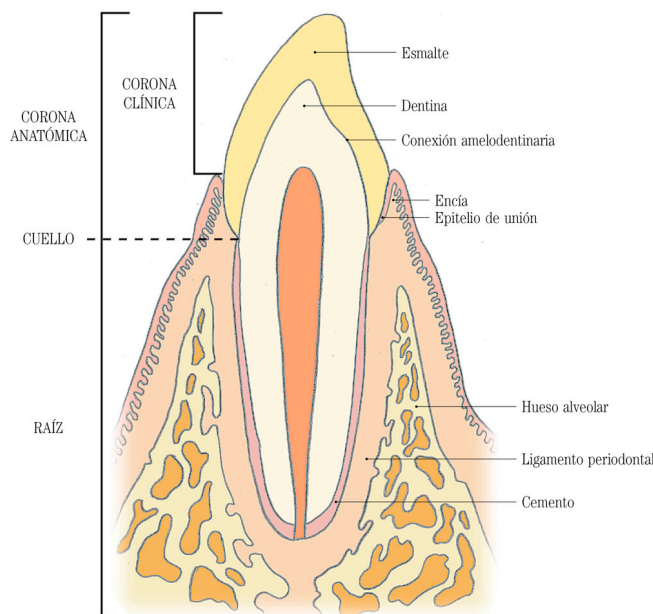


Fig. 2: Esquema de los tejidos dentales y peri dentales (Gómez de Ferraris, 2009)

2.2.1. Anatomía dental y periodontal

2.2.1.1. Dentina

La dentina es la estructura principal de soporte del diente y es el segundo tejido más duro del cuerpo después del esmalte. Tiene un 70% de composición mineral y acelular, en forma de cristales de hidroxapatita y un 30% de composición orgánica como agua, colágeno y mucopolisacáridos. La estructura principal es el **túbulo**

dentinal , que se extiende desde la superficie externa a la pulpa. Los túbulos dentinales atraviesan la dentina en su totalidad: en la corona desde la pulpa hasta la unión dentina-esmalte y en la raíz desde la pulpa hasta la unión dentina-cemento. Hay aproximadamente 30.000 - 40.000 túbulos dentinales por milímetro cuadrado, que pueden transmitir el dolor a la pulpa si la dentina queda expuesta. La formación de la dentina comienza antes que la del esmalte. La primera capa de dentina que se forma y que está presente en el momento de la erupción es la **dentina primaria**, aunque la dentina no deja de producirse durante toda la vida del animal, a esa dentina que sigue produciéndose durante toda la vida, se denomina **dentina secundaria** (San Román, 1998; Katchburian y Arana, 2012; Gorrel 2013).

2.2.1.2. Esmalte

El esmalte es el tejido del organismo mas mineralizado, se compone en un 96% de cristales inorgánicos, principalmente de hidroxapatita, en un 4% de agua y material orgánico fibroso (proteínas solubles e insolubles y péptidos). Es la sustancia más dura del cuerpo y sólo cubre la superficie exterior de las coronas. El esmalte se compone de prismas o varillas hexagonales de cristales de hidroxapatita que se mantienen unidos por una matriz orgánica de cementación. El esmalte se forma por los ameloblastos dentro del germen dentario, antes de la erupción. Es acelular y por lo tanto su capacidad de reparación es muy limitada cuando se daña, una vez que el diente ha erupcionado (Beckman, 2012)

2.2.1.3. Corona y cuello dental

La corona está normalmente cubierta por esmalte y se une con la raíz en una importante zona llamada unión cemento-esmalte (CEJ). La CEJ es anatómicamente el cuello del diente y normalmente no debería ser visible.

2.2.1.4. Raíz

Los dientes pueden tener una o más raíces. En los dientes con dos o más raíces, el punto donde divergen las raíces se llama ángulo de furca. Este puede ser una bifurcación o una trifurcación. En el extremo de la raíz esta el vértice o ápice, que puede tener un solo foramen (humanos), una disposición de canal de delta múltiple (gatos y perros) o permanecer abierta como en los herbívoros. La zona apical es por donde los nervios, los vasos sanguíneos y linfáticos entran hacia la pulpa. En el perro el ápice se encuentra abierto durante el periodo de crecimiento, y se cierra sobre los 9 meses de edad aproximadamente. (San Román 1998)

2.2.1.5. Hueso alveolar

Las raíces están encerradas en los procesos alveolares o alveolos dentarios de los maxilares. El Hueso Alveolar está constituido por las crestas de los maxilares que dan soporte a los dientes. Presenta cuatro capas: Periostio, hueso compacto y hueso esponjoso como todos los huesos, y una cuarta capa que es la lámina cribosa, es una línea de hueso mas denso que radiológicamente se aprecia como una línea blanca que va a delimitar el alveolo dentario, y se denomina lamina dura (Schroeder 1991; Gorrel, 2013).

2.2.1.6. Lamina dura

La imagen radiológica de una lámina dura ininterrumpida es interpretada radiográficamente como un signo de buena salud periodontal.

2.2.1.7. Cemento

El cemento cubre las raíces libres de esmalte y proporciona el punto de unión del ligamento periodontal. Su composición es similar a la del tejido óseo aunque no tiene canales haversianos ni vasos sanguíneos, tiene un 45-50% de materia inorgánica, principalmente en forma de cristales de hidroxiapatita, y un 50-55% de material orgánico. Al igual que en la dentina, su deposición es continua a lo largo de la vida, depositándose en primer lugar y antes de la erupción una primera capa delgada y acelular que se denomina cemento primario, y después de la erupción se forma cemento secundario a partir de los cementocitos (San Román, 1998).

2.2.1.8. Membrana o ligamento periodontal

Está compuesta de haces de fibra de colágeno tensas, que están ancladas al cemento del diente y al hueso alveolar. Hay tres categorías distintas de las fibras periodontales: gingival, trans-septal y alveolodental. Hay vasos sanguíneos dentro del ligamento periodontal que se distribuyen de manera uniforme. También hay nervios que son capaces de transmitir calor, frío, dolor y presión, además de la propiocepción en algunas especies. Tiene la función de soportar el diente en su alveolo y capacitarlo para resistir el estrés y las tensiones de la masticación (San Román, 1998).

2.2.1.9. Pulpa dentaria

Este tejido vivo dentro del diente se encuentra en las cámaras pulpares y conductos radiculares. Está bien innervado y vascularizado y consta de tejido conectivo,

nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, el colágeno y las células mesenquimales indiferenciadas de reserva (por ejemplo, odontoblastos). Inmediatamente después de la erupción, la cavidad pulpar es ancha y a lo largo de la vida se va estrechando, reduciéndose su diámetro debido al depósito de la dentina secundaria (San Román, 1998).

2.2.1.10. Encía y mucosa

La encía o tejido gingival tiene una parte **unida**, otra **marginal o libre** y otra **Interdental** (San Román, 1998).

La encía insertada está fuertemente adherida al tejido conectivo gingival y al hueso a través de profundas papilas.

2.2.1.11. Unión mucogingival:

La unión mucogingival es la unión entre la membrana blanda y carnosa mucosa de la cavidad oral y la dura, es una encía rica en colágeno. Permanece inmóvil durante toda la vida a pesar de que la encía alrededor de ella puede cambiar de altura, debido a la hiperplasia, recesión o la pérdida de inserción.

2.2.1.12. Encía libre

Encía libre forma el margen gingival que es visible durante el examen. Rodea la corona del diente.

2.2.1.13. Surco gingival

El surco gingival se encuentra entre el diente y el margen gingival libre y es la grieta que rodea el diente.

2.2.1.14. Epitelio de unión

También llamada unión epitelial. Es la parte inferior del surco gingival que une los tejidos gingivales al diente mediante hemidesmosomas.

2.2.1.15. Unión cemento-esmalte

Es la unión entre la corona y la raíz anatómica.

2.2.1.16. Papila interdental

El pico de la encía entre los dientes adyacentes se llama la papila interdental. Esta estructura evita la retención de los alimentos y los residuos entre los dientes estrechamente adyacentes (por ejemplo, incisivos en perros) y es una estructura que debe preservarse durante la cirugía siempre que sea posible.

2.2.2. Nomenclatura específica dental

Para especificar zonas concretas de cada pieza dental o lugares entre ellas existe la siguiente terminología:

- **Arcada:**

Grupo de dientes del maxilar o de la mandíbula, también se conoce como arco dental. Hay una arcada superior en el maxilar superior y una arcada inferior en la mandíbula.

- **Apical:**

Dirección que lleva al ápice (punta de la raíz).

- **Cervical:**

Es aquella dirección que se dirige hacia el cuello del diente.

- **Coronal:**

Dirección que se toma para llegar a la corona del diente. La corona es la parte del diente que abarca desde el cuello dentario hasta su cara incisal u oclusal.

- **Distal:**

Se refiere a la parte del diente que se aleja de la línea media.

- **Hemiarcada:**

Es la mitad de una arcada. Por lo tanto existen cuatro hemiarcadas en una boca: superior izquierda, superior derecha, inferior izquierda e inferior derecha.

- ***Incisal:***

Se usa para referirse a la superficie de corte de los incisivos y caninos.

- ***Interproximal:***

Es el espacio que hay entre 2 dientes, también llamado “espacio interproximal”.

- ***Lingual:***

Es la cara del diente que mira hacia el interior de la boca, hacia la lengua. Por lo tanto este término se utiliza para la arcada inferior.

- ***Mesial:***

Es aquella cara del diente que apunta hacia el centro, hacia la línea media que dividiría la boca del perro en sentido longitudinal

- ***Oclusal:***

Es la superficie equivalente a la incisal, pero referido a los premolares y molares, es decir, la superficie masticatoria de los alimentos.

- ***Oclusión:***

Se usa para referirse a la mordida, es decir, al engranaje que se produce entre los dientes de la arcada superior y la inferior al cerrar la boca.

- ***Palatino:***

Es la cara del diente que mira hacia el paladar. Por lo tanto este término se utiliza para la arcada superior.

- ***Proximal:***

Es aquella dirección que se dirige hacia el diente contiguo.

- **Sectores:**

El sector anterior se refiere a los dientes incisivos y caninos. El sector posterior se refiere a los dientes premolares y molares.

- **Vestibular:**

Es la cara del diente o los dientes que dan hacia fuera, hacia el vestíbulo. Por lo tanto la cara vestibular de los incisivos sería la que se puede ver con la boca cerrada del animal al levantar los belfos.

2.2.3. Nomenclatura de la tabla dentaria del perro

En veterinaria se utilizan 2 sistemas de nomenclatura dental. Para referirnos a una pieza dental de la boca: el sistema Anatómico y el sistema Triadan. Este último es el que se va a utilizar en este trabajo.

2.2.4. Sistema Triadan modificado (Floyd, 1991)

Proporciona un método que consiste en la numeración dental para las diferentes especies animales. El sistema se basa en la dentición permanente del cerdo, que tiene 11 dientes en cada cuadrante - tres incisivos, un canino, cuatro premolares y tres molares. El total es de 44 dientes. Establece una numeración de los maxilares por cuadrantes, de tal manera que el superior derecho sería el "1"; el superior izquierdo "2"; inferior izquierdo "3" y el inferior derecho "4" (**Fig. 3**, izda.).

Para designar a los dientes deciduos se sigue el mismo esquema comenzando por la numeración "5" para los dientes deciduos del maxilar superior derecho, "6" para los del maxilar superior izquierdo, "7" para los de la mandíbula izquierda, y "8" para los mandibulares derechos (**Fig. 3**, izda.).

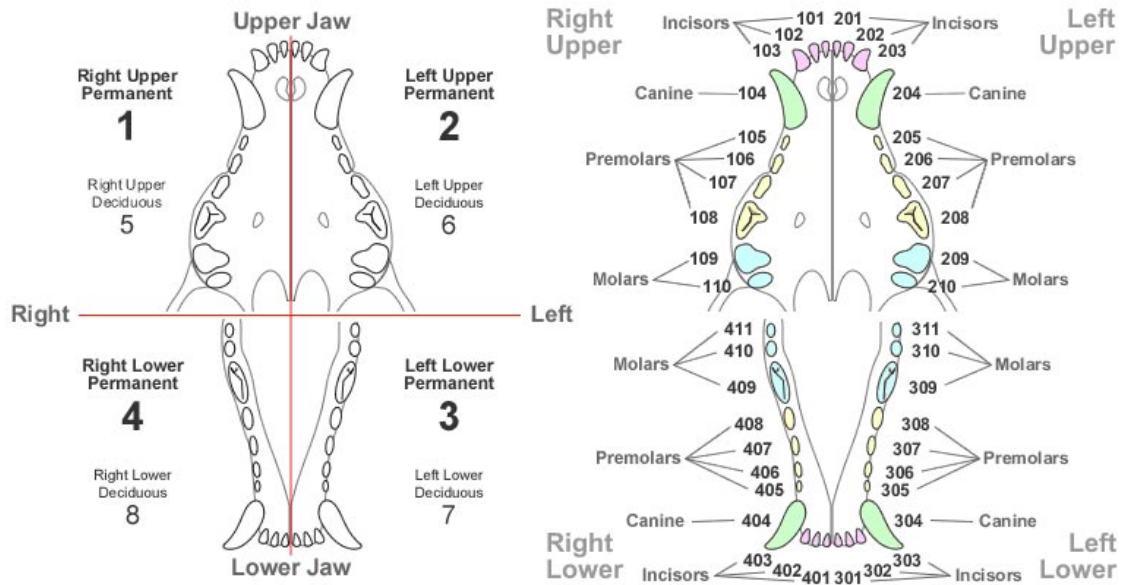


Fig. 3: Esquema de numeración dentaria del Sistema Triadan (Crossley, 2002)

Este sistema considera que la pieza número "01" de cada hemi-arcada dentaria son los incisivos centrales. Desde ellos se va sumando un dígito a cada pieza dental en dirección caudal hasta llegar a los últimos molares (**Fig. 3**, dcha.).

2.3. Odontogénesis

La odontogénesis es el desarrollo o formación de los dientes. Etimológicamente viene de “odonto” o diente y “génesis” u origen, por tanto quiere decir “Origen del Diente”.

El tracto gastrointestinal, incluida la boca y los dientes comienza a formarse como un tubo de origen endodérmico, en poco tiempo esta estructura se diferencia en tres partes: de la primera da lugar a la faringe, esófago, estómago, duodeno, tracto respiratorio, hígado y páncreas. La segunda parte da lugar al yeyuno, ileon, ciego y colon ascendente. Y la última parte forma el resto del colon transverso, el recto y el canal anal.

La cavidad oral se forma a partir del final de la faringe de la primera porción como platillo oral, y de este se forma la maxila, la mandíbula y el resto de estructuras asociadas.

Los dientes solo se encuentran en los vertebrados, y su evolución se cree que está unida a la aparición de la cresta neural (Smith and Hall, 1993).

Los dientes derivan de la primitiva hendidura bucal, es decir del epitelio ectodérmico bucal y del mesodermo adyacente (**Fig. 4**).

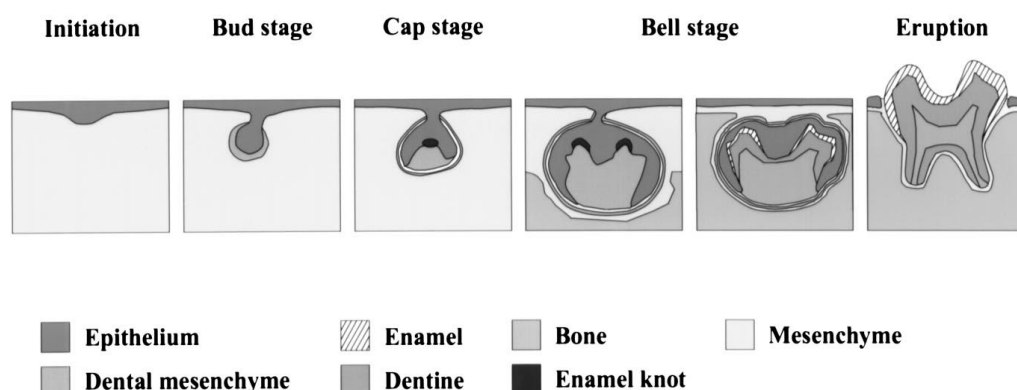


Fig. 4: Esquema de la formación del diente (Thomas Aberg en Thesleff, 1997).

2.3.1. Fases del desarrollo del diente

El desarrollo o etapas de crecimiento del diente se puede dividir en 4 fases o etapas:

2.3.1.1. Fase primaria o de yema dental:

- **Iniciación:**

Ocurre durante el periodo embrionario, intrauterinamente. Se produce un engrosamiento a lo largo de todo el margen de la cavidad bucal, como si fuese una herradura, se denomina cresta dental y comienza a formarse primero por la porción mandibular, continuando luego por la maxilar.

El epitelio ectodérmico bucal tiene una capa superficial de células aplanadas y otra basal de células altas, conectadas al tejido conectivo embrionario o mesénquima por medio de la membrana basal.

La capa de células basales del epitelio ectodérmico, inducidas por el mesénquima subyacente, proliferan y van creciendo hacia el mesénquima, dando lugar a la formación de dos crestas diferenciadas: la lámina vestibular y la lámina dental, más caudal (**Fig. 5**).

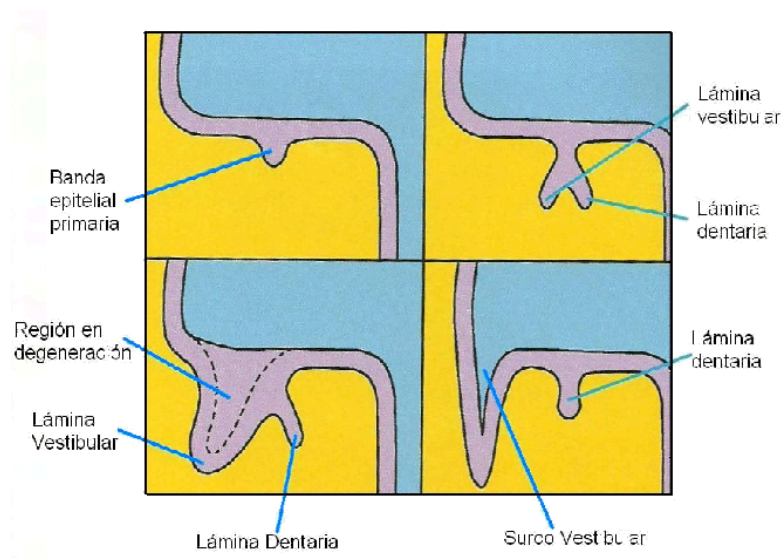


Fig. 5: Esquema de Katchburian E. y Arana V., 2012.

Inicialmente la lámina dental es continua y uniforme, pero después se van produciendo una serie de tumefacciones epiteliales denominados yemas o brotes dentarios (*bud stages*) (**Fig. 6**), tanto en el proceso mandibular como en el proceso maxilar, que se corresponderán con los incisivos y premolares deciduos de cada arcada. En el perro las láminas producen 28 tumefacciones en cada maxilar, las cuales desarrollarán los dientes de leche o deciduales (San Román, 1998).

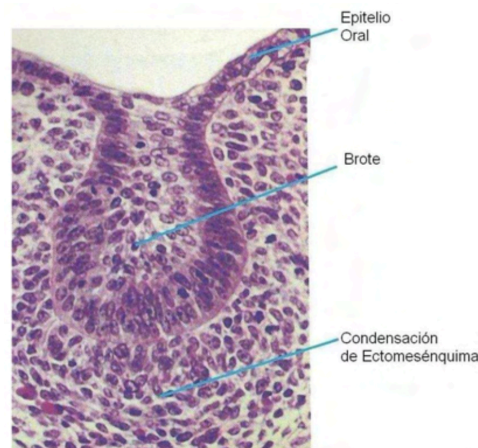


Fig. 6: Corte Histológico al MO de un brote dental (Katchburian E. y Arana V., 2012).

- **Proliferación:**

La proliferación desigual de cada uno de los brotes, a expensas de sus caras laterales o bordes, determina una concavidad en su cara profunda dando lugar al estadio de casquete (**Fig. 7**). En este momento comienzan las etapas de diferenciación histológica y morfológica. La evolución histológica hace que se diferencie el **órgano del esmalte**, que procede del ectodermo. En el órgano del esmalte, a su vez se diferencian: el epitelio dental externo, el retículo estrellado, el estrato intermedio y el epitelio dental interno. El órgano del esmalte dará lugar al esmalte, que es el único tejido dental ectodérmico. la **papila dental** (que origina el complejo dentinopulpar) y el **folículo dental** (de origen mesodérmico). Estas 3 estructuras, forman el **germen dentario**. El germen dentario sufrirá una serie de cambios morfológicos, químicos y funcionales, originando todos los tejidos dentarios y peridentarios (Bruna, 2011).

Por lo tanto, en esta fase, los brotes van creciendo con forma de copa invertida, englobando en su interior tejido mesenquimal (**Fig. 7**). Por su forma, a los periodos de crecimiento se les llama: de caperuza o casquete (*cap stage*) y de campana (*bell stage*).

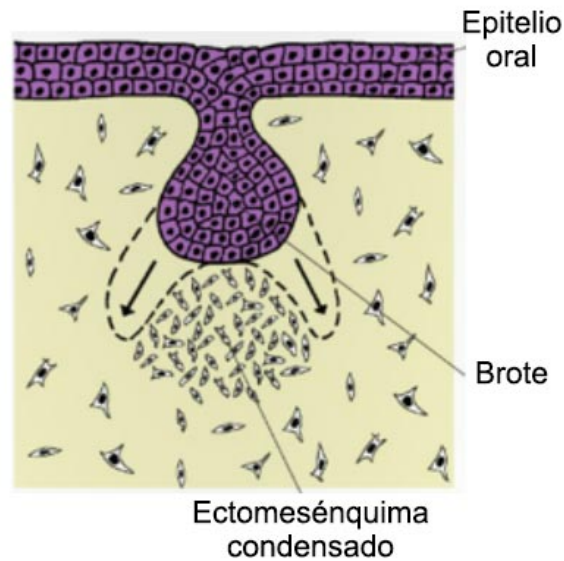


Fig. 7: Esquema del paso de brote a Fase de Caperuza o Casquete (Katchburian y Arana, 2012).

2.3.1.2. Estadio de caperuza o casquete:

Se produce un incremento de células mesenquimatosas por debajo del brote dentario. Paralelamente al crecimiento del brote dentario (**Fig. 8**), se va incrementando la concavidad en la zona más profunda del casquete. A este conjunto se le denomina órgano del esmalte y se mantiene unido a la cresta dentaria por el cuello.

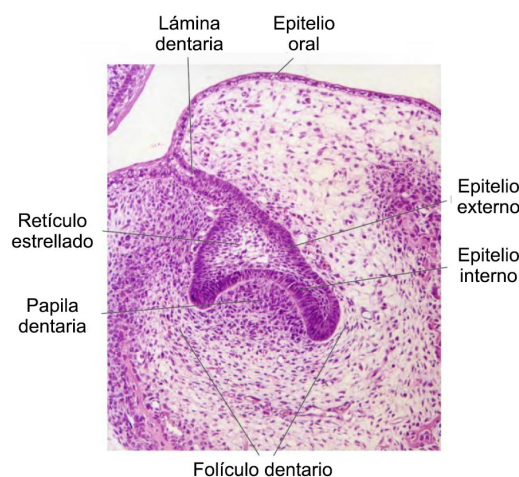


Fig. 8: Corte histológico de un germen dental en estadio de Casquete (Katchburian y Arana, 2012).

2.3.1.3. Fase de Campana

En esta fase se va a producir una diferenciación celular que dará lugar a los diferentes componentes histológicos de la pieza dentaria.

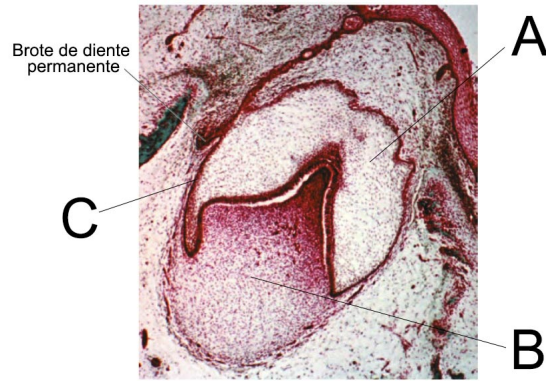


Fig. 9: Micropreparación histológica mostrando un brote dental, en estadio de campana temprana (Katchburian y Arana, 2012).

En esta etapa Campana (**Fig. 9**) se diferencia ya el órgano del esmalte (A), la papila dental (B) y el folículo dentario (C). En este estadio, comienza el depósito de minerales o fase de calcificación. A medida que se va formando el órgano del esmalte, el diente va tomando la forma de una campana. Lumsden, en 1988 demostró que la lámina dentaria generadora del órgano del esmalte proviene del epitelio oral, mientras que la papila dental procede de la cresta neural cefálica (Bruna, 2011; Hernández Puyol, 2002).

El **proceso de diferenciación celular** en esta fase de campana comienza con la transformación de las células de la papila dental adyacentes al epitelio dental interno, en Odontoblastos. Estos Odontoblastos elaboran predentina y la depositan cerca del epitelio dental interno. La predentina posteriormente se calcifica y se convierte en Dentina.

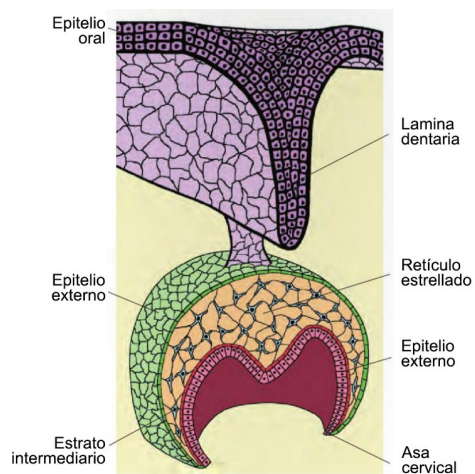


Fig. 10: Estado de campana y su relación con la lámina dentaria (Katchburian y Arana, 2012).

Al final de la etapa de Campana, se va a producir también, la diferenciación celular a osteoblastos y ameloblastos, y comienza a formarse el esmalte.

La forma de la corona queda completamente definida durante el final de la fase de campana, por eso también se llama a esta fase: estado de Corona. Aquí también se depositan la matriz de la dentina y del esmalte por los odontoblastos y ameloblastos respectivamente (**Fig. 11** y **Fig. 12**). Después se completa la formación de la corona y el diente erupciona en la cavidad oral.

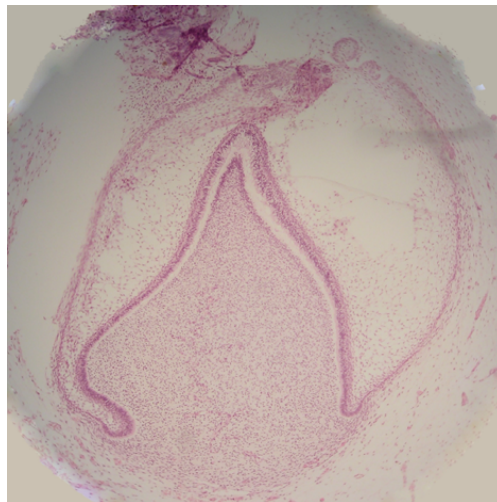


Fig. 11: Estado de Corona (Foto con MO tomada de Katchburian y Arana, 2012).

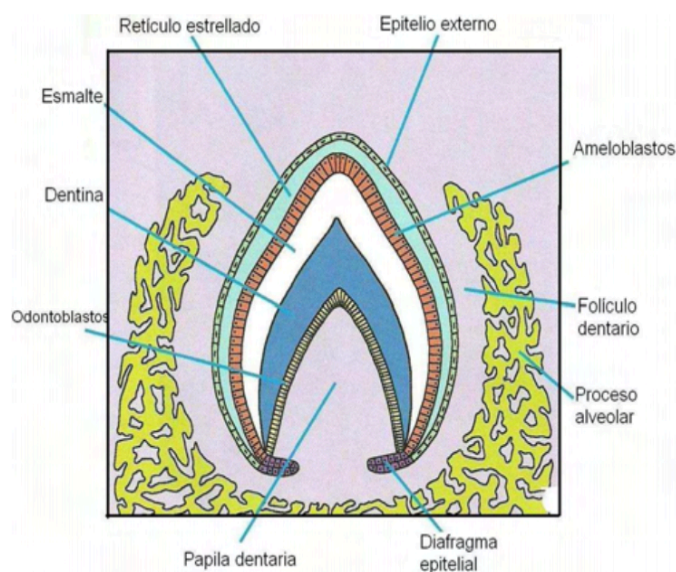


Fig. 12: Esquema fase de Corona (Katchburian y Arana, 2012).

En las fases de campana y corona, se produce por lo tanto, el depósito de minerales y la **formación de los tejidos dentales**.

La dentina es el primero de los tejidos duros en formarse, lo hace al final del estadio de campana, a partir de la papila dentinaria. A partir de un engrosamiento de la membrana basal, entre el epitelio esmáltico interno y las células de la capa superficial de la papila (odontoblastos). Los odontoblastos presentan unas prolongaciones llamadas fibras de Tomes, estas fibras se irán haciendo más largas a medida que la capa de la dentina se va engrosando. Cada prolongación de estas fibras va a determinar la formación de un canalículo en el interior de la dentina, estos son los Túbulos de la dentina. Comienza así a formarse la dentina y paralelamente los odontoblastos van retrocediendo centripetamente hacia la cavidad pulpar.

La dentina se forma a partir de una matriz de fibras de colágeno y una sustancia amorfa rica en glucosaminoglucanos, que se mineraliza rápidamente con la formación de cristales de hidroxiapatita. La dentina es menos dura que el esmalte debido a este mayor contenido de sustancias orgánicas. La dentina seguirá formándose durante toda la vida del animal. (San Roman, 1998; Kachtburian y Arana, 2012; Gómez de Ferraris, 2009).

La fase final de la corona también se conoce como **estado de raíz**. La formación radicular se inicia por la actividad mitótica que tiene lugar en el asa cervical del órgano del esmalte; la misma se elonga en una dirección apical, produciendo una doble capa de células epiteliales, proliferando a lo largo de la línea de la futura unión dentino-cementaria de la raíz. Esta estructura es la **vaina radicular de Hertwig (Fig. 13)** y es directamente responsable de inducir la formación de la dentina radicular.

El depósito de dentina radicular continúa y engloba a las células de la papila dental que constituirán la pulpa dental. Las células mesenquimatosas que contactan con la vaina de Hertwing se diferencian en cementoblastos, responsables de la formación del cemento que recubre la dentina radicular. Las fibras de colágeno darán lugar a las fibras del ligamento periodontal (Barbería, 2001).

El desarrollo radicular, comienza antes de la erupción y coincide en gran medida, con este proceso. En ese momento, se ha completado la amelogénesis y la corona no erupcionada se encuentra cubierta por epitelio reducido del órgano del esmalte.

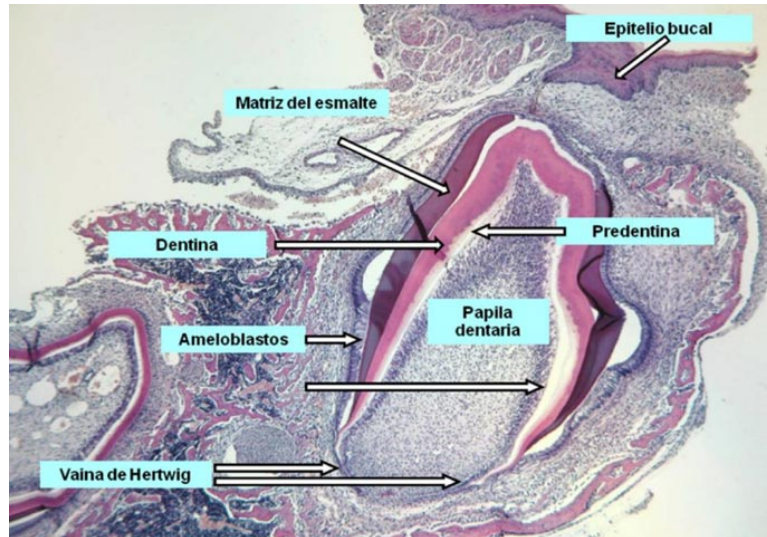


Fig. 13: MO de corte histológico de germe dentario en estado de corona donde se pueden apreciar los tejidos mineralizados y la *vaina de Hertwig* (Manisagian, 2012).

La superficie interna de la *vaina de Hertwig* (epitelio dental interno del órgano del esmalte) induce la diferenciación odontoblástica en las células mesenquimales adyacentes, y estas células comienzan a secretar matriz de dentina. Cuando la capa externa de dentina comienza a mineralizarse, las células epiteliales adyacentes de la vaina radicular (epitelio dental externo) se separan de su superficie (fragmentación de la *vaina de Hertwig*) y aparecen espacios, en los que se producen cadenas de células epiteliales, las cuales se conocen como **REM** (Restos Epiteliales de Malassez) (Manisagian, 2012).

2.3.1.4. Período de erupción.

Esta es la última etapa y se puede dividir a su vez en 5 periodos (Wang, 2013):

1) **Movimiento preeruptivo:**

Movimiento del germe dentario en desarrollo antes de la finalización de la formación de la corona.

2) **Erupción intraósea:**

Comprende el movimiento del diente ya formado dentro del hueso

3) **Penetración de la mucosa**

Comprende el movimiento durante la penetración a través de la mucosa oral

4) Erupción preoclusal:

Movimiento del diente ya erupcionado antes de alcanzar una posición oclusiva (Fig. 14).

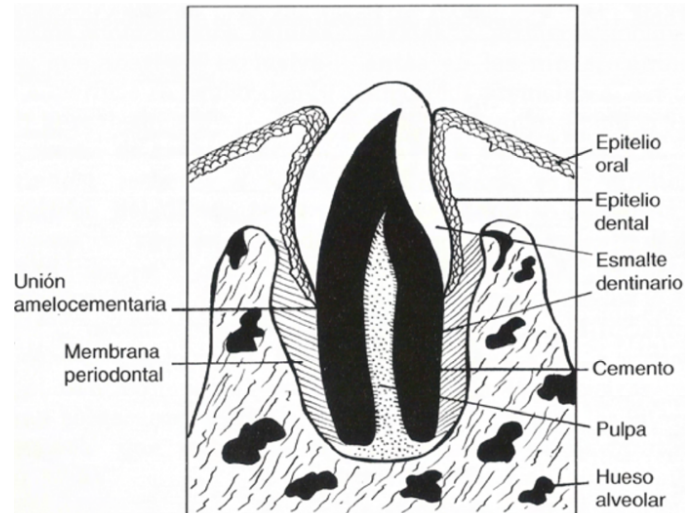


Fig. 14: Esquema anatómico de erupción preoclusal (Barbería Leache, 2001).

5) Erupción post-oclusal:

El diente ya establece su oclusión con el antagonista y los movimientos que ocurren van a durar toda la vida. Intervienen dos elementos:

Durante el crecimiento, al aumentar la longitud de la rama mandibular por aposición de hueso en la región del cóndilo, toda la mandíbula desciende del cráneo y por lo tanto el plano oclusal, con ello aumenta el espacio intermaxilar y continúa la erupción activa.

Tras finalizar el crecimiento de la rama, la erupción depende de la abrasión de las áreas masticatorias, pues al presentarse este proceso, el diente migra verticalmente para compensar la pérdida de la estructura del diente por desgaste. A este proceso se le llama erupción pasiva (Bruna, 2011).

2.4. Características dentales del perro

Los dientes son unas estructuras anatómicas importantes en el proceso defensivo, predador y digestivo de los carnívoros. Presentan una porción externa o corona, recubierta por el material más duro del cuerpo: El esmalte, y se encuentran bañados en un medio líquido: la saliva.

Tienen otra porción oculta: las raíces o porción radicular, que se encuentra recubierta por el cemento, el cual se encuentra articulando con el hueso alveolar en el que se aloja mediante el ligamento periodontal, tanto en el maxilar superior como en el maxilar inferior o mandíbula (San Román, 1998).

Se encuentran situados colocados en dos curvas parabólicas a la entrada de la boca: una en el maxilar superior, y otra en el maxilar inferior (**Fig. 15**), quedando los superiores ligeramente por delante de los inferiores.

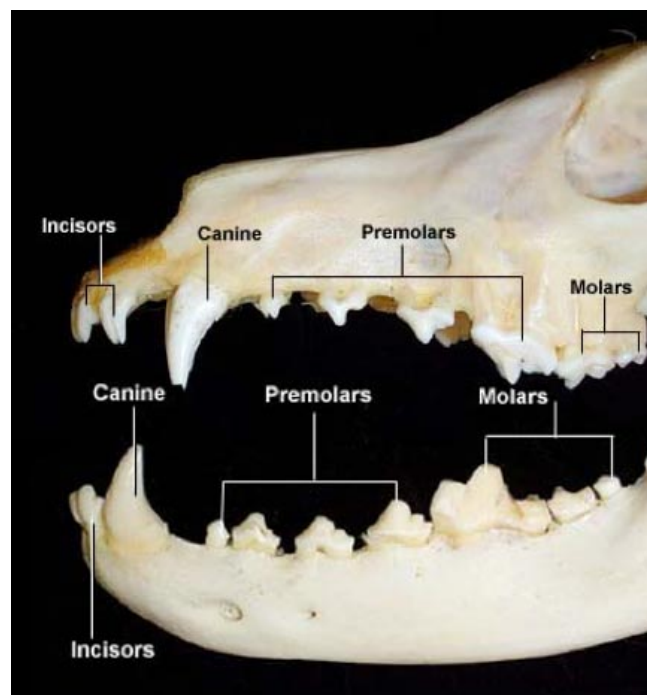


Fig. 15: Vista lateral de los maxilares del perro (Rouge, 2003).

La dentadura del perro moderno es similar a la del hombre. Hay diferencias en el número y la forma de los dientes, pero la anatomía básica se mantiene igual. Se trata de una especie difiodonta (2 denticiones), braquiodonta (presentan corona y raíz, crecen

hasta el final de la erupción y luego se desgastan), secodonta (de cúspides puntiagudas y con una muela carnicera) y Heterodonta (tienen dientes de diferentes formas).

Los dientes, por su forma, se pueden dividir en tres grupos: Incisivos, caninos y genianos (**Fig. 16**).

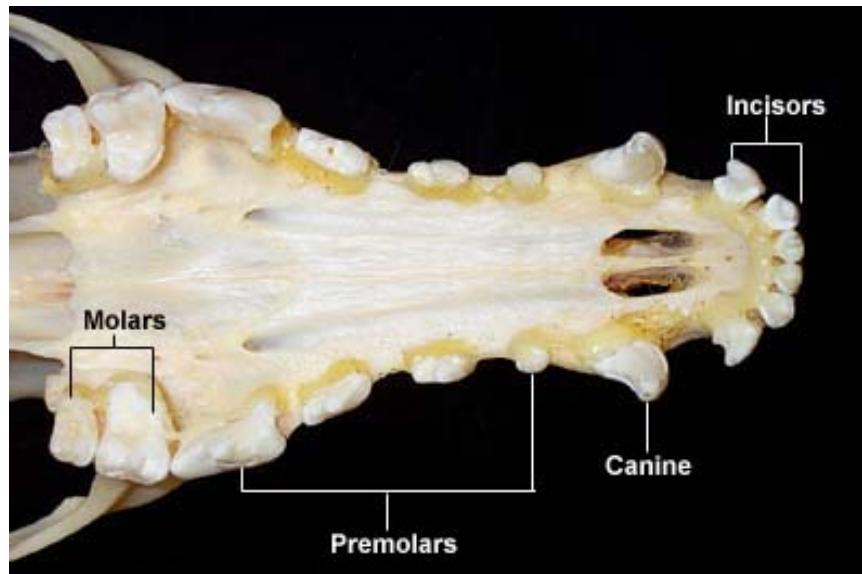


Fig. 16: Vista oclusal de la disposición dentaria en el maxilar superior (Rouge, 2003).

- **Incisivos:**

Dispuestos casi verticalmente y muy juntos, en número de 3 a cada lado de las Hemiarquadas dentarias, tanto superior como inferior.

- **Caninos:**

Grandes, cónicos y curvos, su función es la de agarrar y desgarrar los alimentos.

- **Genianos:**

Cuya función es la masticatoria. Se dividen en :

- **Premolares:**

Vistos lateralmente, los premolares deben mostrar un aspecto de cizalla, con la punta de un diente superior apuntando en un espacio interdental en la mandíbula inferior y viceversa. Si esta condición no se cumple, puede indicar un defecto mordida como prognatismo mandibular o braquignatismo.

- **Molares:**

Son las piezas dentarias encargadas de la masticación. Las fuerzas de la masticación en la zona molar del perro se han estimado en 300 a 800 psi como fuerza de mordida pasiva con una fuerza de mordida repentina localizada cuando las mandíbulas cerradas aprietan, de hasta 30.000 a 80.000 psi.

2.5. La erupción en el perro

Erupción es el nombre dado al movimiento mediante el cual el desarrollo dentario, gradualmente atraviesa y pasa la superficie epitelial para ocupar la posición funcional en el arco dentario. Es un proceso local, pero perfectamente programado, de tal manera que la erupción normal ocurre en un tiempo determinado correspondiente a una edad cronológica del animal.

Muchos autores han estudiado el movimiento de los dientes en dirección oclusal y han buscado la asociación entre erupción clínica, edad dentaria, edad ósea y edad cronológica (Bruna, 2011).

Se ha tratado de explicar la **erupción dental** por medio de diferentes **teorías**:

- ***Teoría del crecimiento radicular:***

Ésta implica que el crecimiento de la raíz actúa como impulsor del diente, presionando en el fondo del alveolo y haciendo que el diente erupcione hacia la cavidad oral. Es decir, el diente crece como consecuencia del apoyo de la raíz sobre una base inamovible: el hueso (Hernández Puyol, 2002). No obstante esta teoría se ha desechado por las evidencias clínicas de que los dientes sin raíces también erupcionan, porque algunos dientes con la raíz formada no hacen emergencia (Bruna, 2011; Barbería, 2001) y porque se han realizado experimentos utilizando la betacatenina (sustancia que inhibe la formación radicular), que demuestran que estos dientes sin raíz también erupcionan (Kim et al, 2013).

- ***Teoría del crecimiento del hueso alveolar:***

Cahill y Marks (1980), entre otros, observaron grandes acúmulos de hueso neoformado por debajo de las criptas de los dientes en erupción. Así, establecieron la teoría del hueso alveolar basada en la idea de que la proliferación celular apical crea una fuerza eruptiva que movería al germen dentario en dirección a la cavidad oral. Para demostrar este fenómeno se ha investigado inhibiendo el desarrollo celular en esta zona, sin embargo, no se han obtenido cambios en el proceso eruptivo. Además se ha

comprobado que al crecer la raíz, inicialmente, se produce una reabsorción en la base del alveolo y no la aposición (Bruna, 2011; Barbería, 2001).

- ***Teoría pulpar:***

Sugería la generación de una fuerza propulsiva por propulsión del complejo pulpar, en la que la erupción vendría originada por la presión en los vasos sanguíneos que se hallan dentro y debajo del diente (Bruna, 2011; Proof, 2006).

- ***Teoría del ligamento periodontal:***

En el extremo basal del diente se encuentra un ligamento en forma de “hamaca” que rodea las raíces del diente en vías de formación. Éste, por sus cambios continuos, actuaría directamente sobre el crecimiento del diente. El ligamento en “hamaca” pasaría de un lado a otro del alveolo por debajo del ápice de la raíz, impulsando al diente hacia la cavidad bucal. No obstante, se ha demostrado que este ligamento es una membrana sin conexiones óseas por lo que no puede ejercer el efecto que se le supone (Bruna, 2011; Barbería, 2001).

- ***Teoría vascular:***

Sugiere que los vasos sanguíneos del tejido folicular apical producen una tensión elevada en la zona responsable de los movimientos eruptivos (San Roman, 1998; León, 2011; Tan et al, 2009; Floyd, 1991). Trabajos realizados con medicamentos que modifican la presión capilar en esa zona, hacen bastante improbable esta teoría (Bruna, 2011; Barbería, 2001).

- ***Teoría folicular:***

Los cambios acontecen en la capa intermedia de la membrana periodontal, que está constituida por un plexo de fibras precolágenas. Así ocurre la maduración de estas fibras de colágeno del ligamento periodontal con el consiguiente acortamiento. Pero parece improbable que las fibras del folículo dental proporcionen la fuerza eruptiva, ya que, según algunos autores, su eliminación no impide el movimiento eruptivo. Estos creen que el tejido conectivo del folículo dental es una fuente rica en factores responsables de la formación y reabsorción óseas (Bruna, 2011;Hernandez Puyol, 2002; Barbería 2001).

Todas estas teorías postulan que la fuerza mecánica de un diente en erupción, es la causa de la reabsorción ósea en el proceso de la erupción dental, al igual que ocurre en los movimientos dentales de origen ortodóncico.

Contrariamente a estas teorías, recientes experimentos han demostrado que el hueso se reabsorbe y forma caminos de erupción en ausencia de cualquier presión directa del diente en el hueso. Esto sugeriría la liberación, por parte del folículo dentario o por el tejido adyacente, de mediadores que intervendrían en el proceso de reabsorción ósea (Floyd, 1991). Además, multitud de estudios moleculares recientes indican que una interacción compleja de genes reguladores conduce a una cascada de señales moleculares que determina la erupción (Kim et al, 2013). Algunos autores, han indicado que la variabilidad en el desarrollo y la erupción dental en humanos es debida mayoritariamente a factores genéticos (Bruna, 2011; Hughes et al, 2007).

2.6. Denticiones del perro

El perro como especie difiodonta, al igual que el Hombre, presenta dos denticiones: nace edéntulo y la erupción de los dientes deciduales comienza entre la cuarta y la sexta semana de vida, con cierto grado de individualidad (**Fig. 17**).

Normal eruption times for deciduous and permanent teeth in dogs and cats				
	Deciduous		Permanent	
	Puppies	Kittens	Dogs	Cats
Incisors	4–6 weeks	3–4 weeks	12–16 weeks	11–16 weeks
Canines	3–5 weeks	3–4 weeks	12–16 weeks	12–20 weeks
Premolars	5–6 weeks	5–6 weeks	16–20 weeks	16–20 weeks
Molars	—	—	16–24 weeks	20–24 weeks

Fig. 17: Tabla de la cronología de la dentición canina y felina (Belows, 2011).

2.6.1. La dentadura decidua

En los perros de forma general emerge entre las 3 y las 6 semanas de vida y normalmente se completa hacia los 2 meses de edad.

En general los incisivos centrales e intermedios, así como los caninos deciduos erupcionan hacia la cuarta semana de vida. Los incisivos extremos, lo hacen entre la quinta y la sexta semana. Y los molares, de la sexta a la octava semana. La mayoría de los dientes deciduales se diferencian respecto de sus sucesores en que son ligeramente más pequeños y en que presentan unas cúspides mas afiladas (San Roman, 1998).

La fórmula dentaria decidua del perro es la siguiente:

$$2(I3/3 C1/1 Pm3/3) = 28 \text{ piezas en total}$$

2.6.2. La dentadura permanente

Entorno a los 3 meses de edad comienza la erupción de la dentadura permanente (**Fig. 17**).

A medida que los dientes definitivos se desarrollan, tiene lugar la reabsorción de la parte superior de la cripta ósea, donde se alojan las raíces de los dientes caducos. Esto da lugar al desprendimiento o exfoliación de los dientes de leche y a la emergencia de los definitivos a través de las encías.

En primer lugar emergen los incisivos entre los 3 y los 4 meses de vida, en segundo lugar los caninos y premolares entre los 4 y 5 meses, y por último los molares hacia los 5-7 meses de vida. Los primeros premolares y molares erupcionan como dientes definitivos sin predecesores decíduos (Bellows, 2011).

El periodo de tiempo en que coinciden los dientes deciduos con los permanentes en posición funcional se denomina etapa de dentición mixta (Bellows, 2011).

La fórmula dentaria Permanente en el perro es la siguiente:

$$2(I3/3 C1/1 Pm4/4 M2/3) = 42 \text{ piezas en total.}$$

2.7. Anomalías y alteraciones de la erupción y exfoliación

2.7.1. Alteraciones de la erupción

2.7.1.1. Según el momento cronológico

Se define como **Momento Normal de Erupción** de un diente (*Normal Biologic Eruption*) (Cuadros et al, 2008) cuando este lo hace teniendo 2/3 de su raíz ya formada. En base a esto, se puede considerar las siguientes alteraciones:

- **Retraso Biológico de la Erupción (Delayed Biologic Eruption):** Cuando no hay erupción a pesar de estar formados 2/3 de la raíz del diente.
- **Erupción Dental Retrasada (Delayed Tooth Eruption o DTE):** Cuando la edad dental no es la adecuada, y no presenta 2/3 de la raíz formados como debiera con arreglo a su edad.
- **Retraso de Erupción:** Son aquellos casos en los que la erupción dentaria no se produce o se produce con un desarrollo dental más avanzado que la propia erupción.

2.7.1.2. Factores que influyen en el retraso de la erupción dentaria

En Medicina Humana se ha descrito que existen muchísimos factores que influyen en el retraso de la erupción dentaria (Cuadros, 2008).

a) Factores locales:

- **Anquilosis de dientes temporales:** produce hipoplasias o retrasos de los dientes permanentes.
- **Impactación dientes primarios:** produce el bloqueo y retraso del diente permanente.

- **Dientes supernumerarios:** pueden bloquear la salida o la posición de los dientes permanentes.
- **Quistes dentígenos y periodontitis apical de los dientes temporales:** pueden producir retrasos de erupción de los permanentes.
- **Tumores odontogénicos u odontomas:** Se suelen encontrar como hallazgo causal a un retraso de erupción, normalmente unilateralmente.
- **Displasias:** dental u odontomaxilar, son anormalidades del desarrollo del maxilar o de dientes que afectan a un cuadrante por lo general.
- **Traumatismos en la dentición primaria:**
 - Avulsión.
 - Fractura radicular.
 - Intrusión.

b) Factores sistémicos:

- **Alteraciones endocrinas:** Hipotiroidismo, hipopituitarismo, hipoparatiroidismo, etc.
- **Infecciones víricas, o daños de tipo quimioterápico.**
- **Fallo renal, intoxicaciones por metales pesados, etc.**
- **Enfermedades genéticas.**

2.7.2. Alteraciones del desarrollo y exfoliación dental

Las alteraciones en el desarrollo de los dientes pueden deberse a anomalías en la diferenciación de la lámina dental y de las yemas dentales, y estas pueden ser de número, tamaño y forma. Y también pueden deberse a alteraciones en el desarrollo de los tejidos duro (anomalías de estructura).

El factor hereditario es una de las principales causas de estas las alteraciones. El perro, probablemente, sufre más alteraciones hereditarias que ningún otro animal, debido a la diversidad de tamaño y forma de las distintas razas de perro, y la alta consanguinidad que ha sufrido en la cría indiscriminada (Schroeder, 1991).

2.7.2.1. Alteraciones del desarrollo en la dentición decidua

La dentición decidua, a pesar de tener una función temporal en el perro, puede presentar una serie de alteraciones o patologías:

- ***Erupción retrasada del diente de leche:***

El retraso de la erupción, puede deberse a un denso tejido gingival subyacente. Perros de razas pequeñas están predispuestos a este problema. El diagnóstico se confirma mediante radiografía (Bellows, 2011).

- ***Diente de leche persistente:***

Se produce por no tener sucesor definitivo que favorezca su exfoliación. Estos dientes pueden permanecer funcionalmente en el lugar de la pieza definitiva por mucho tiempo.

- ***Diente de leche fracturado:***

La fractura de los dientes de leche, aunque no es una alteración del desarrollo, si que puede afectar al mismo, ya que secundariamente a la misma, se pueden producir infecciones radicales que pueden afectar al desarrollo de los dientes permanentes contiguos. Por este motivo, en estos casos lo mejor es llevar a cabo su extracción.

- **Diente de leche retenido:**

Es aquel que no se exfolia, a pesar de coexistir ya erupcionado su homólogo permanente. Está indicada su extracción para evitar mal posicionamientos, apiñamientos y sus consecuencias, como son cúmulos de alimentos, gingivitis y enfermedad periodontal (**Fig. 18**).



Fig. 18: Yorkshire terrier con dientes de leche retenidos.

Butković en 2001, publicó un trabajo en el que se observa una incidencia de Dientes de leche retenidos de un 5,4% de la población canina, y también se aprecia una mayor presentación de esta patología a en perros de raza pequeña, viéndose en las razas pequeñas el 95,6% del total de perros con dientes de leche retenidos. En el 91,0% de estos perros la retención de dientes de leche afectaba a los caninos superiores. Se ha sugerido que los dientes deciduos retenidos pueden tener su origen en una falta de dilaceración de la membrana periodontal que fija al diente con su alveolo, no produciéndose la normal reabsorción de la raíz (San Roman, 1998) o que presenta un carácter genético (Gorrel, 2013), pero la causa de esta alteración sigue sin ser del todo conocida.

2.7.3. Alteraciones en el número de dientes

2.7.3.1. Anodontia o ausencia congénita de dientes

La ausencia congénita de dientes es frecuente en la especie canina. Para poder evidenciarla es preciso el uso de radiología oral, ya que hay que diferenciar la falta de

piezas dentarias en el examen clínico, distinguiendo así la verdadera ausencia de los mismos o simplemente no han emergido.

Puede tener de origen hereditario o puede ser el resultado de trastornos en los estadios iniciales del desarrollo dental (Gorrel, 2013).

2.7.3.2. Polidoncia, dientes supernumerarios, hiperdoncia o mayor numero de piezas dentales

Los dientes supernumerarios o hiperdontia, pueden aparecer en todas las razas, tanto en la dentición decidua como en la permanente, aunque es más prevalente en la dentición permanente. Algunas razas están más representadas, como el Boxer, Bulldog y Rotweiler. El origen más probable es la formación de un tercer germen dentario a partir de la lámina dental primaria o permanente (Dole y Spurgeon, 1997).

Habitualmente se produce de manera unilateral, y suele producirse más en el maxilar que en la mandíbula (San Roman, 1998). Aproximadamente el 90% de todos los dientes supernumerarios son incisivos y premolares, a veces también se presentan molares (Plavica 2001), (Schroeder, 1991), (Dole y Spurgeon, 1997). Butkovic, en 2001, observó un 85% de presentación en 1º y 2º premolares e igualdad de presentación en maxila y mandíbula y equidad también en todas las razas de su estudio. La prevalencia va desde el 3,86% (Butkovic, 2001) al 7,6% (Pavlica, 2001) de todos los perros.

2.7.3.3. Oligodoncia, hipodoncia o menor número de piezas dentales

Algunos autores han diferenciado el término oligodoncia de hipodoncia, refiriéndose a **oligodoncia** cuando existe un número escaso de dientes, la cual es poco frecuente en el perro, salvo en las razas braquicefálicas, donde el número de molares en la mandíbula puede ser inferior a lo normal (Gorrel, 2013). Se refieren a **hipodoncia** cuando existe la falta de una o más piezas dentarias, ésta es más frecuente que la oligodoncia (Gorrel, 2013), y se puede presentar en cualquier raza, es más frecuente en la dentición permanente que en la decidua (Jorgenson, 1980). Cuando falta un diente de leche, es muy probable que también falte el permanente.

Algunas enfermedades sistémicas, como la displasia ectodérmica de las razas de pelo corto, han sido relacionadas con la presentación de hipodoncia.

Butković en 2001, refiriéndose a la falta de piezas dentarias de forma genérica como oligodoncia, realizó un estudio retrospectivo en perros, llegando a la conclusión de que la oligodoncia es la patología más frecuente de todas las que se presentan en el perro. Su presentación puede ser congénita o adquirida. Tiene una mayor incidencia en la mandíbula que en el maxilar superior. La oligodoncia congénita más frecuente encontrada fue la falta del primer y segundo premolares mandibulares y del primer premolar en la maxila. En cambio la oligodoncia adquirida, se observó más frecuentemente como ausencias del 2º y 4º premolares mandibulares, y en la maxila con mayor frecuencia del primer incisivo y el cuarto premolar.

2.7.3.4. Raíces accesorias o supernumerarias

En el perro pueden aparecer piezas dentales con mayor número de raíces de lo normal. Se presentan más frecuentemente en 2º y 3º premolares superiores (con una incidencia del 9 y 10% del total). Son muy raras en los dientes anteriores, tanto inferiores como superiores (Regizi y Sciubba, 1993).

2.7.3.5. Raíces hiponumerarias

En el perro pueden aparecer piezas dentales con menor número de raíces de lo normal. Lo hacen con mayor frecuencia en el 2º y 4º premolares superiores, en lo que la raíz Palatina. Y también puede presentarse en los 2º molares, tanto inferior como superior (Wiggs and Lobprise, 1997).

2.7.3.6. Diente impactado

Cuando un diente no ha erupcionado en su momento normal de erupción, se considera que está impactado. Una barrera física en la vía de erupción, puede causar la impactación de un diente. Normalmente se trata de una condición adquirida, pero también puede tener un origen genético. La causa más frecuente suele ser un traumatismo o un mal posicionamiento del diente en el alveolo. (Skrabalak, 1993).

2.7.4. Anomalías en el tamaño

2.7.4.1. Macrodoncia

Cuando la corona del diente presenta un tamaño mayor de lo habitual, pero la raíz y la cavidad pulpar son casi normales, se denomina macrodoncia (Wiggs y Lobprise, 1997).

La macrodontia puede ser absoluta, como se ha visto en casos de gigantismo pituitario, o puede ser relativa, cuando existe una mandíbula o maxila desproporcionadamente pequeña en relación al diente (Reggizi y Sciubba, 1993). La Macrodontia focal o localizada se refiere a un diente o grupo de dientes de Mayor tamaño que el resto (Verstraete, 1999). El resultado final es espacio insuficiente en el arco dental.

2.7.4.2. Microdontia:

Microdontia, hace referencia a dientes normales en su forma en general, pero de reducido tamaño. Los dientes pueden ser de pequeño tamaño en el caso de una lesión pituitaria, o pueden ser relativamente pequeños con respecto a la mandíbula o a la maxila. Las alteraciones en el tamaño de los dientes pueden producir problemas de maloclusión y mala limpieza de las coronas debido a la retención de alimentos.

2.7.5. Anomalías de la morfología

2.7.5.1. Fusión y Gemación:

Fusión es la unión durante el desarrollo de dos o más gérmenes dentales, en los que la dentina y otros tejidos dentales aparecen unidos. Se puede producir una unión completa, resultando un diente más grande de lo normal, la unión de coronas o la unión de raíces únicamente, dependiendo del estado de desarrollo de los dientes en el momento de la fusión, el canal radicular puede ser compartido o separado. La fusión se puede producir en los dientes deciduos y en los permanentes (Ravn, 1971).

Gemación es la formación de un segundo diente a partir de una única yema dental, sin llegar a producirse la separación completa de las dos piezas (Gorrel, 2013).

Suele asociarse a un diente supernumerario, y se produce como consecuencia de originarse un segundo diente a partir de una única yema dental, sin llegar a producirse la separación completa de las dos piezas.

Es imposible diferenciar una fusión de un diente normal con uno supernumerario adyacente, de una Gemación (Verstraete, 1999). Si estos dientes no causan problemas funcionales, no es necesaria su extracción (Gorrel, 2013).

Se desconocen las causas de la Fusión y de la Gemación, aunque se han sugerido como posible causa los traumatismos. (Pavlica, 2001).

2.7.5.2. Concrecencia:

Es la fusión de dientes adyacentes ya formados por medio del cemento. Puede ocurrir antes o después de la erupción. Es una forma de fusión, en la que los dientes solo están unidos por el cemento. Se puede producir por trauma o apiñamiento (Verstraete, 1999).

2.7.5.3. Dilaceración:

Se refiere a una alteración en la forma, que produce una curvatura o angulación en la raíz o la corona de un diente. La causa suele ser un trauma mecánico agudo durante el desarrollo del diente. Los factores hereditarios parecen tener que ver solo en un pequeño número de casos.

2.7.6. Anomalías de la estructura

2.7.6.1. Hipoplasia de esmalte o displasia:

La Hipoplasia de esmalte o displasia es la formación incompleta o defectuosa de la matriz orgánica del esmalte dental, cuya causa puede ser local, sistémica o hereditaria. El resultado es un esmalte defectuoso, que puede ser blando o poroso.

Pueden parecer dientes normales en el momento de la erupción, pero poco tiempo después van perdiendo color según las áreas porosas y carentes de esmalte se tiñen con pigmentos procedentes de la comida, del suelo, etc.

En casos más graves, el esmalte puede desprenderse o pueden verse zonas carentes de desde el momento de la erupción. (Gorrel, 2013; Shafer, 2012).

2.7.6.2. Perla de esmalte:

Es una pequeña y focal masa de exceso de esmalte en la superficie del diente. Se presenta con mayor frecuencia en la bifurcación o trifurcación del diente. Ocasionalmente llega a tener un soporte dentinal, pero raramente se extiende hasta la cavidad pulpar (Wiggs y Lobprise, 1997).

2.7.7. Anomalías en la dirección

2.7.7.1. Erupción dentaria con mala dirección

La posición normal de cada diente puede verse alterada, pudiendo presentar diferentes alteraciones:

- **Torsión, rotación o versión:**

Se denomina torsión, rotación o versión cuando un diente gira sobre su eje longitudinal, es frecuente en perros braquicefálicos (San Roman, 1998). La rotación dental en el perro ha sido descrita con mayor frecuencia en razas de perros grandes, observándose con más incidencia en la mandíbula, apareciendo el primer premolar con rotación rostral en el 96% de los casos. Los dientes rotados con frecuencia no llegaban a atravesar por completo el hueso alveolar y se encontraban impactados, por lo que los dientes rotados a menudo están asociados a una impactación (Butkovia, 2001).

- **Desviación:**

Es cuando existe un desplazamiento lateral del diente de su eje longitudinal, siendo casi siempre la raíz el eje de giro. Cuando la arcada dental está completa la desviación solo puede producirse hacia fuera (labial, bucal o vestibulo versión) o hacia adentro (lingual o liguo-versión) (San Roman, 1998).

- **Maloclusión:**

La posición de los dientes en oclusión debería ser igual para todas las razas, sin embargo debido a las características en los cráneos de algunas razas, se pueden desarrollar problemas de mal oclusión. El primer autor en estudiar y clasificar las distintas formas de maloclusión dentaria, fue Edward Hartley Angle en 1899.

Las razas mesocefálicas en oclusión normal, deben presentar los incisivos superiores ligeramente craneales a los inferiores, y el canino mandibular ocluye equidistalmente entre el incisivo lateral maxilar y el canino, de tal modo que cuando la boca está cerrada los caninos no contactan entre ellos (salvo en razas braquicefálicas).

De esta forma los incisivos superiores ocluyen por detrás de los inferiores. Por otro lado, la cúspide del 4º premolar inferior debe alojarse entre el tercer y cuarto

premolar superiores, estas relaciones anatómicas son consideradas como las llaves de la oclusión (San Roman, 1998). A la oclusión que cumple estas llaves se denomina Oclusión Clase I de la clasificación de Angle (San Roman, 1998).

La **maloclusión** se define como la posición anormal de los dientes y, según su origen, se puede clasificar en:

1) Maloclusiones Esqueléticas:

La razas braquicéfalas tienen un mandíbula superior más corta de lo normal, y en las dolicocefálicas es más larga de lo normal. En ninguno de los 2 casos, la mandíbula es responsable de la discrepancia rostrocaudales (Gorrel, 2013). Las maloclusiones esqueléticas se pueden catalogar en:

○ **Prognatismo:**

Es la situación oclusal en la que la mandíbula sobresale rostralmente sobre el maxilar, se da en los perros de características braquicefálicas. Los caninos inferiores tocan los incisivos laterales. Los premolares mandibulares se encuentran desplazados rostralmente. En cambio la situación de los incisivos puede variar:

- a) La oclusión incisiva se mantiene normal
- b) Los incisivos superiores e inferiores se encuentran en sus líneas de mordida, produciendo un gran desgaste dental.
- c) Los incisivos inferiores son rostrales a los superiores, con un resalte que puede ser desde 0,5 cm. Hasta 5 cms. o más. (San Roman, 1998).

○ **Braquignatismo:**

Es la situación de oclusión dental en la que el maxilar superior sobresale con respecto a la mandíbula. Se presenta normalmente en perros dolicocefálicos. El braquignatismo puede presentar diferentes grados. Los

incisivos superiores mas rostrales de lo normal respecto a los inferiores, dejando un espacio que puede variar de 0,5 cm a mas de 5 cms. Los caninos superiores se encuentran mas rostralmente y tocando a los inferiores. Lo premolares superiores también se desplazan rostralmente respecto a los inferiores, con un grado de desplazamiento similar al de los incisivos y caninos (San Roman, 1998).

- **Mordida cruzada:**

Tiene lugar cuando uno de los 2 labios crece mas que el otro. En su forma mas leve dará lugar a una mordida prognática o braquignática en un de los 2 lados.

En los casos graves, se desarrollará una cabeza y un mordida torcidas, con una línea media desviada. También se puede desarrollar una mordida abierta en la zona de los incisivos, desplazando verticalmente a los incisivos, los cuales no ocluyen. El espacio entre incisivos superiores e inferiores podrá oscilar entre 0,5 y 2 cms. (Gorrel, 2013).

- **Mandíbula Estrecha:**

En estos casos, la mandíbula se presenta demasiado estrecha respecto del maxilar. El resultado es que los caninos inferiores contactan con la encía del maxilar con el paladar duro, en lugar de acoplarse al diastema entre el tercer incisivo superior y el canino superior de cada lado. Esta alteración puede producir incapacidad para cerrar la boca, pudiéndose lesionar la encía o la mucosa palatina. En casos graves no tratados puede llegar a producirse una comunicación oronasal. Se puede presentar en la dentición decidua y en la permanente. En el caso de presentación en los caninos de leche y no ser extraídos, la posición de los deciduos exacerbará mas aún la maloclusión de los definitivos, ya que estos erupcionan medialmente a los primeros (Gorrel C., 2013).

2) Maloclusiones puras o dentales:

Se debe solamente a un mal posicionamiento de los dientes. En estos casos, no hay una anormalidad esquelética evidente, la longitud del maxilar y la mandíbula no presenta diferencias, y tampoco hay discrepancias entre el ancho del maxilar y de la

mandíbula. No obstante en algunos casos pueden concurrir maloclusiones dentales y esqueléticas al mismo tiempo. (Gorrel C., 2013). Estas maloclusiones pueden ser:

- ***Mordida Cruzada Anterior:***

Es cuando la oclusión se presenta en tijera invertida, de uno, varios o todos los incisivos. Puede deberse a la persistencia de incisivos de leche, aunque es probable que también exista un origen esquelético ya que frecuentemente los animales afectados desarrollan una mordida prognática mandibular, por lo que una mordida cruzada anterior en un animal joven, puede considerarse un signo precoz de un posterior desarrollo del prognatismo mandibular (Gorrel C. 2013) (Fig. 19)



Fig. 19: Detalle de mordida cruzada anterior.

- ***Maloclusión de los caninos:***

- *Desplazamiento rostral de los caninos maxilares:*

Puede ser causado por la persistencia de los caninos de leche, aunque también parece haber una predisposición racial, estando descrita en el Collie enano (Gorrel, 2013).

- Desplazamiento medial de los caninos inferiores:

Se cree que pueda deberse a persistencia de canino decíduos mandibulares, aunque no se ha descrito en razas pequeñas que son las que mayor persistencia de estos diente presentan. Es una alteración común en razas dolicocefalas, que presentan un maxilar mas largo que la mandíbula, por esta razón esta patología podría ser realmente una maloclusión esquelética (Hennet, 1992; Gorrel, 2013) (**Fig. 20**).



Fig. 20: Lingualización de canino inferior permanente.

o **Maloclusión de molares y premolares:**

La mordida Cruzada Posterior, muestra una relación anómala entre la muelas carníceras observadas en razas dolicocefalas., en las que la relación normal vestibulo-lingual está invertida (Gorrel. 2013; Hennet, 1992).

o **Maloclusión asociada a la retención de los dientes de leche:**

La persistencia de los dientes de leche mientras emergen los definitivos puede conducir a problemas de maloclusión.

- Caninos mandibulares:

La erupción de los caninos mandibulares permanentes se produce medialmente a sus homólogos decíduos. Cuando los decíduos

se exfolian, los permanentes pasan a ocupar la posición de los primeros. Cuando los caninos mandibulares de leche son retenidos, los permanentes completan la erupción manteniéndose medialmente a los anteriores, impactando con el paladar y pudiendo producir afecciones graves como las fistulas oronasales (Gorrel, 2013).

- Caninos maxilares:

Los caninos maxilares definitivos, emergen rostralmente a los caninos maxilares de leche. Si estos últimos no se exfolian, es posible que los caninos permanentes queden en una posición rostral, ocupando el hueco o diastema en el que deberían ocluir los caninos inferiores. En esta situación los caninos maxilares podrían quedar impactados y no completar la erupción del todo. Por otro lado, los caninos inferiores desplazados, podría colisionar con el 3º incisivo superior y desplazar a este último. También puede ocurrir que el canino mandibular se vea desplazado a una posición medial al canino superior, pudiendo producir lesiones en el paladar, incluso fistulas oronasales (San Roman, 1998).

- Incisivos:

Los incisivos permanentes nacen caudales a los de leche. La retención de incisivos de leche, interferirá la oclusión en tijera normal, haciendo que los incisivos permanentes superiores colisionen con los inferiores, ocasionando una mordida cruzada anterior y lesiones localizadas del tejido blando (San Roman, 1998).

o ***Maloclusiones debidas a la Interdigitación Dental:***

Cuando el desarrollo acelerado del maxilar o de la mandíbula, coincide con la erupción de los incisivos o caninos de leche, que interactúan para constituir el entrelazado dental. Cuando este entrelazado se ha producido, el maxilar y la mandíbula se ven obligados a crecer rostralmente al mismo, independientemente de las características genéticas que portase el animal. En el caso de los caninos mandibulares, que ven limitados rostralmente por los 3º incisivos, darán lugar a una mordida prognática mandibular no hereditaria. (Gorrel, 2013).

En la especie humana, se ha llegado a la conclusión de que el 50% de las maloclusiones son adquiridas (Shipp y Fahrenkrug, 1992; Gorrel, 2013). Sin embargo no existen datos concretos sobre el origen de las mismas en los perros, aunque se ha sugerido atribuir un carácter hereditario o no en función de si se trata de una maloclusión dental o Esquelética, confiriéndole a esta última un carácter hereditario y dejando la primera de origen incierto (Gorrel, 2013; Hennet et al, 1992).

2.7.8. Alteraciones de la dentición permanente

Existen otras patologías dentales que se pueden encontrar en el perro, y que pueden estar relacionadas con alteraciones del desarrollo dental. como son:

2.7.8.1. Fracturas dentarias:

Las fracturas dentarias se presentan en el 19,3% de los perrosDental. La mayoría (86%), se producen en los incisivos usuperiores e inferiores. Entre las causas mas frecuentes se encuentran los accidentes de tráfico, durente el juego, al coger objetos duros con la boca y cazando (Butkovia, 2001).

2.7.8.2. Gingivitis:

Es la inflamación de las encías, cuando aún el proceso es reversible. Se presenta con mayor frecuencia en perros de raza pequeña, en los que también es mas frecuente la presencia de dientes de leche retenidos, que pueden producir apiñamientos y favorecer la presentación de la gingivitis.

2.7.8.3. Periodontitis:

La periodontitis es cualquier cambio que afecte al final a la raíz y al alveolo. Se presenta con la misma frecuencia que la oligodoncia. Se considera una enfermedad seria porque causa la pérdida dental. Las causas que la producen son numerosas y no totalmente conocidas. La gingivitis, el hipertparatiroidismo nutricional secundario, la placa bacteriana y las infecciones pulpares, son factores que favorecen la periodontitis (Butkovia et al, 2001).

Se ha descrito que existe un factor genético (Rosemberg 1966). Presenta una mayor incidencia en razas de perros pequeños (Pavlica 2001).

2.7.8.4. Placa bacteriana y cálculo:

La placa bacteriana es una biopelícula que recubre todas las estructuras orales, posee un componente celular, fundamentalmente bacteriano y otro acelular de un triple origen bacteriano, salival y de la dieta. Aparece como un depósito blanco amarillento fuertemente adherido que no se desprende por la masticación o por el chorro de aire o agua a presión (Llena-Puy, 2006). Se debe diferenciar entre placa supragingival y placa subgingival, como 2 entidades diferentes. En primer lugar, la placa supragingival va a favorecer la formación de la bolsa periodontal y de la placa subgingival. La placa va a ser la responsable del inicio y de la progresión de la periodontitis. En la región subgingival se puede distinguir entre placa adherente y no adherente. La placa adherente puede mineralizarse y dar lugar al cálculo subgingival (San Roman, 1998).

2.8. Mecanismos moleculares de la erupción dental

Cohen, en 1962, fue el primer investigador en descubrir la mediación de algunas sustancias en el desarrollo dental. Demostró que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) actuaba como modulador en el desarrollo y erupción de molares en los ratones (Cohen, 1952; Valenzuela y Pavic, 1993). Desde entonces numerosos estudios se han sucedido para tratar de elucidar los complejos mecanismos que hacen posible el simétrico y cronológicamente sincronizado mecanismo que produce la exfoliación dentaria decidua y la erupción dental permanente.

La erupción dentaria implica un proceso de reabsorción y deposición ósea interaccionado, que se produce en el folículo dental y que se encuentra regulado por mediadores biológicos, como el Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), la citoquina interleuquina 1 (IL1), la matriz de metaloproteinasas y otros mediadores, que dan lugar a una cascada de fenómenos moleculares.

Antes de la erupción, deben concentrarse células mononucleares en el folículo, estas células mononucleares o células madre, se fusionan para formar osteoclastos (células que reabsorben el hueso alveolar), para abrir la cripta ósea donde se aloja el diente y así permitir la erupción del mismo.

En la fase embrionaria de **proliferación**, y en la etapa embrionaria de **campana**, se produce la diferenciación celular a **osteoblastos** (células formadoras de hueso) y **ameloblastos** (células formadoras de esmalte), y comienza a formarse el esmalte. Esta diferenciación celular está mediada por multitud de sustancias que han sido objeto de numerosos estudios por diversos autores. Estos mediadores van a interactuar entre la lámina dental, las células mesenquimales y la papila dental (**Fig. 21**). contribuyendo a completar el desarrollo dental y el proceso de erupción (Thesleff y Sharpe, 1997). El primer mediador identificado a este nivel fue la proteína morfogenética 4 (BMP4) (Vainio, 1993).

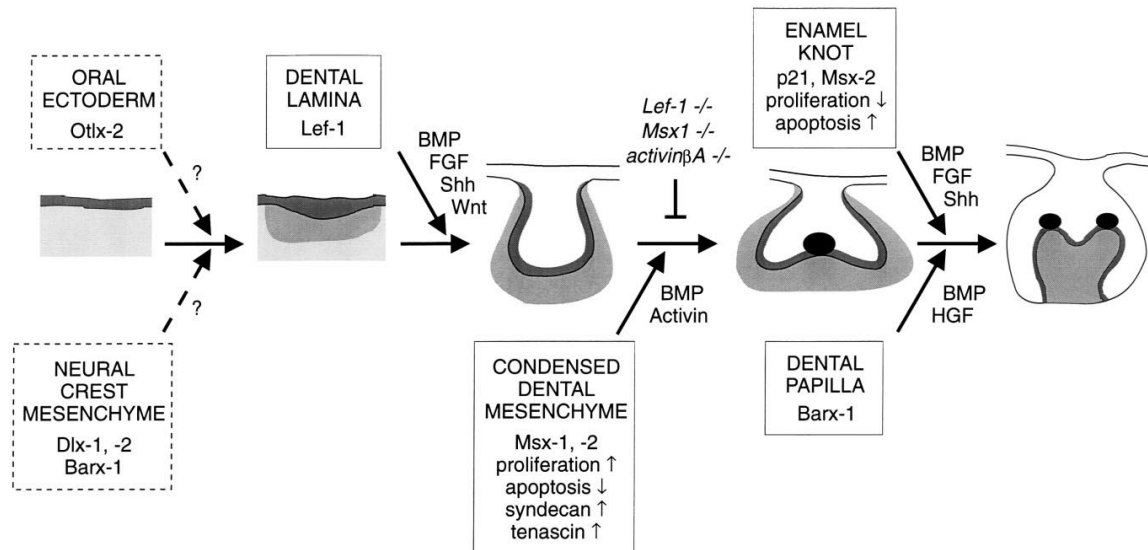


Fig. 21: Esquema de Thesleff y Sharpe, 1997.

Como ya se vio anteriormente al hablar de la odontogénesis, durante el periodo de formación radicular, se forma la vaina radicular de Hertwig, la cual es directamente responsable de inducir la formación de la dentina radicular.

Al fragmentarse la *vaina de Hertwig*, aparecían espacios en los que se producían cadenas de células epiteliales llamadas **REM** (Restos Epiteliales de Malassez)(Manisagian, 2012). Varios estudios han investigado **la expresión de diferentes tipos de proteínas y macromoléculas por los REM**. Entre las proteínas que expresan se encuentran: citoqueratinas, neuropéptidos, proteínas de superficie celular, citoquinas (Liu et al, 2001) y factores de crecimiento. También se ha descrito que los REM sintetizan otras macromoléculas características de las matrices extracelulares, tales como glucosaminoglucanos, ácido hialurónico, dermatán sulfato y condroitin sulfato (Merrilees et al, 1983). La sialoproteína ósea (BSP) interviene en la mineralización de hueso y cemento, también es elaborada por los REM. La BSP actúa como molécula de adhesión, para mantener las células en la superficie radicular, y como un iniciador de la mineralización a lo largo de la superficie radicular (Hunter et al, 1994; Lekic et al, 1996). La osteopontina (OPN) expresada también por los REM, actúa sobre la formación de tejidos mineralizados, tales como el hueso y el cemento (Lekic et al, 1996; Ivanovski et al, 2001), sugiriendo así una función potencial de estas células en la formación de tejido mineralizado a lo largo de la superficie radicular durante ambos procesos de desarrollo, y posiblemente, de regeneración (Hasegawa et al, 2002b). Además, la evidencia sostiene un papel de la OPN en el control de la extensión de los cristales de hidroxapatita y/o su crecimiento (Hunter y Goldberg, 1994).

El folículo dental, es la bolsa de tejido conectivo laxo que rodea el órgano del esmalte de cada diente (Cahill y Marks 1980). Estos autores, realizaron una serie de experimentos que evidenciaron el papel fundamental que desempeña el folículo dental en el reclutamiento de osteoclastos y osteoblastos durante la erupción dentaria. Demostraron que la eliminación del folículo dental en perros con premolares en desarrollo, evitó la erupción dentaria. Evidenciaron que si el folículo dental era dejado intacto, pero el germen del diente se removía y reemplazaba por una réplica de metal o silicona, el diente artificial también erupcionaba en su momento, con la formación de una vía normal de erupción en el hueso suprayacente y en el hueso trabecular de la base de la cripta ósea (Marks y Cahill, 1984).

En otro estudio posterior, la eliminación de cualquiera de las mitades: de la corona o de la base del folículo dental, impidió la erupción dentaria. La eliminación de la parte coronal del folículo, suprimía la resorción ósea y la vía de erupción, mientras que la eliminación de la parte basal impidió la aposición ósea (Marks y Cahill, 1987), lo que sugiere que la resorción polarizada y la formación de hueso alrededor del diente en erupción pueden estar reguladas por genes expresados diferencialmente en las partes adyacentes del folículo dental, y que se requieren ambos procesos para la erupción de los dientes (Wise et al, 2007; Wise y King, 2008).

En los últimos años, algunas de las moléculas de señalización que se expresan diferentemente en el folículo, se han identificado en la rata. Entre ellas, el RANKL o Factor del ligando del receptor activador del factor nuclear Kappa, que se localiza en los osteoblastos y células del estroma de la médula ósea, el Factor Estimulante de Colonias 1 (CSF 1) y la Osteoprotegerina (OPG) parecen ser los responsables de regular la osteoclastogénesis, y cuando la OPG se une al Rankl, neutraliza el proceso de actividad osteoclastica (Thesleff, 2003; Quian , 2007).

La molécula Rankl se expresa en los osteoblastos del tejido periodontal durante la erupción dentaria y los movimientos ortodóncicos. Se ha sugerido un posible papel del Rank en la diferenciación osteogénica de las células madre, durante la formación del periodonto (Shiotani et al, 2001).

Varios autores indicaron la relación entre el fallo de erupción y defectos en el folículo dental o alteraciones en el flujo sanguíneo del mismo (Nagpal et al, 2005; Ahmad et al, 2006; Frazier-Bowers et al, 2007).

Otra molécula expresada en el folículo es la proteína morfogenética 2 o BMP2 (Wise y Yao, 2006; Liu et al, 2012). Estos descubrimientos, proporcionan una evidencia convincente de que el folículo dental es esencial para la erupción de los dientes y también resta credibilidad a creencias y teorías anteriores acerca del papel fundamental de la pulpa dental, los ligamentos periodontales y las raíces en el proceso de la erupción dentaria. En esta misma línea, Kim et al, en 2013, demostraron que la β -catenina se expresa fuertemente en las células odontoblasticas, y que ésta es necesaria para la formación de las raíces. La Inactivación específica de la β -catenina en los odontoblastos del tejido en desarrollo, produjo molares que carecían de raíces. A pesar de la ausencia radicular en esos molares, se produjo la erupción dental de los mismos en ratones. Durante muchos años se pensó que las raíces, que crecen a la vez que se desarrolla el diente, eran las responsables de la fuerza principal en la erupción dentaria, pero estos experimentos evidencian que la formación de raíces es una consecuencia y no una causa de la erupción dentaria.

En la fase inicial de la morfogénesis y diferenciación celular dental, se encuentran implicadas 5 familias de genes (Thesleff, 2003; Wise et al 2000; Ohazama et al 2004):

- 1) Proteínas Morfogenéticas óseas (BMP).
- 2) Factores de Crecimiento fibroblástico (FGFs)
- 3) Proteínas Internas Wingless (Wnts)
- 4) Proteínas Hedgehog (Hhs)
- 5) Moléculas de la Familia del Factor de Necrosis Tumoral (TNF)

Las BMP, proteínas morfogenéticas del hueso (del inglés *Bone Morphogenetic proteins*) son un grupo de moléculas de señalización que pertenecen a la superfamilia de péptidos TGF- β . Actúan como factores estimulantes de la diferenciación osteoblástica y la formación ósea. Sus acción en el Osteoblasto, está mediada por unas proteínas, que son las Smad y las Mapkinasa, que actúan como receptores específicos de superficie celular. Este proceso a su vez, es modulado por proteínas extra e

intracelulares mediante fenómenos locales de retroalimentación negativa o de *feedback*).

Existen unos receptores transmembranales específicos (Markakis, 2004) que se expresan en las células de la pulpa dental. Su función es transducir las señales de las BMP desde la membrana plasmática hacia el núcleo por medio de las proteínas Smad. Son el Receptor Activador de Smad (R-smad), el Mediador Común de Smad (Co-Smad) y el Inhibidor de Smad (I-Smad) (Miura et al, 2003).

También hay antagonistas de las BMP: son los noggin, cordina y folistatina, que modulan la bioactividad de los morfogenes (Balemans et al, 2002).

Existen seis clases de BMP: que van desde la BMP2 hasta la BMP7, ambas inclusivas, y se van expresando diferentemente en un gradiente temporoespacial (Dominici et al, 2004).

Ha sido posible la clonación de varias BMP, a partir de tejido pulpar de rata: obteniéndose la BMP2, BMP4, BMP6, BMP7, BMP8, el Factor de Crecimiento de Diferenciación 1 (GDF1), GDF5, GDF6, GDF7, GDF11 y el Factor Neutrófilo Derivado de línea celular Glial (GDNF) (Jiang et al, 2002).

Se ha evidenciado que la BMP2, BMP4, BMP6, BMP7 y la GDF11 se expresan durante la diferenciación de los odontoblastos, mientras que las BMP5 lo hacen durante la diferenciación de los ameloblastos (Dominici et al, 2004).

Ensayos realizados sobre ratas, han evidenciado que durante el *major burst* de la osteoclastogénesis, el folículo dental expresa sobre todo Factor Estimulante de Colonias 1 (CSF1), inhibiendo la expresión de osteoprogesterina (OPG) en las células del Folículo Dental (Wise et al, 2004). La reducción de la OPG, permitiría el incremento de la Osteoclastogénesis, favoreciendo la reabsorción ósea necesaria para la erupción dental (Wise, 2005).

La regulación positiva del VEGF y RANKL en el folículo dental, promueve el burst menor de la osteoclastogénesis. El proceso de reabsorción tiene lugar en la porción coronaria de la cripta ósea, y la expresión de RANK y otros genes similares, es mucho mayor en esta parte del folículo dental que en la basal.

En cambio la osteogénesis se inicia durante el *major burst* en la base de la cripta ósea, y el crecimiento máximo tiene lugar durante el *minor burst*. Genes osteoinductores como el BMP2, están implicados y se expresan sobretodo a nivel basal del folículo dental (Wise, 2009).

Estudios en ratas de 8 y 15 días de edad, mediante el empleo de microscopia electrónica, demostraron que durante la erupción dental el “TGF- β ”, junto a las especies reactivas de oxígeno contribuyen a la apoptosis del epitelio oral en el momento de la erupción dental. (Moriguchi, 2010).

Estudios en ratas mas recientes, han demostrado, que la expresión de TNF- α en el folículo dental regula a su vez la expresión de las proteínas morfogenéticas BMP2 y BMP3 y participan en el proceso de erupción dental (Yao, 2010).

2.9. Bioquímica oral

La cavidad oral es un medio muy complejo y único debido a su doble función, respiratoria y digestiva, es el único lugar en el cuerpo donde el tejido mineralizado está expuesto al ambiente externo (Greabu, 2007). En este entorno existen interacciones complejas entre varias superficies: la de los tejidos blandos y duros, los alimentos, el aire y los microorganismos. La saliva se encuentra en este entorno complejo y trata de hacer frente a los constantes cambios. La saliva Incluye un gran número de compuestos inorgánicos y orgánicos, que son un espejo de la salud del cuerpo.

2.9.1. La saliva

Se define saliva como el fluido producido por las glándulas salivales, siendo parte del primer jugo digestivo que se pone en contacto con el alimento. A este último se lo denomina saliva total, este material está representado por la suma de secreciones de las glándulas salivales mayores y menores y también por el líquido gingival o crevicular, que es un transudado seroso. Esta saliva es un líquido turbio ya que posee, además, partículas en suspensión provenientes del medio bucal, como por ejemplo bacterias, leucocitos, células descamadas del epitelio bucal, restos alimenticios, etc

Es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales mayores en el 93% de su volumen y de las menores en el 7% restante. El 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas. Si bien la cantidad de saliva es importante, también lo es la calidad de la misma (Llena-Puy C., 2006).

Las variaciones en el flujo salival pueden verse afectadas por múltiples factores fisiológicos y patológicos, de forma reversible o irreversible. Juega un papel fundamental en el mantenimiento de la integridad de las estructuras bucales, en la vida de relación, en la digestión y en el control de infecciones orales.

En la cavidad oral drenan numerosas glándulas salivales. La saliva secretada mantiene la boca húmeda y facilita la masticación para lubricar el paso del bolo alimenticio.

Las glándulas salivales del perro son:

- **Glándulas salivales mayores:** *parótida, mandibular y cigomática.*
- **Glándulas salivales menores:** *labiales, linguales, bucales y palatinas*

La saliva es estéril cuando sale de las glándulas salivales, pero deja de serlo inmediatamente cuando se mezcla con el fluido crevicular, restos de alimentos, microorganismos, células descamadas de la mucosa oral, etc. (San Roman, 1998). A esta saliva se llama "Saliva Total", que sería el material representado por la suma de las secreciones de las glándulas salivales mayores y menores, y también junto al fluido gingival, que es un transudado seroso. Esta saliva es un líquido turbio ya que posee, además, partículas en suspensión provenientes del medio bucal, como por ejemplo bacterias, leucocitos, células descamadas del epitelio bucal, restos alimenticios, etc (Llena Puy, 2006).

Las glándulas salivales están formadas por células acinares y ductales, las células acinares de la parótida producen una secreción esencialmente serosa y en ella se sintetiza mayoritariamente la α -amilasa, esta glándula produce menos calcio que la submandibular, las mucinas proceden sobre todo de las glándulas submandibular y sublingual y las proteínas ricas en prolina e histatina de la parótida y de la submandibular. Las glándulas salivales menores son esencialmente mucosas.

La saliva realiza muchas funciones. Es importante la calidad de la misma, pero también la cantidad. Se ha comprobado que existe multitud de factores externos que pueden aumentar o disminuir la producción de saliva. (Llena Puy C., 2006). Entre los factores que pueden producir **Hiposalivación o xerostomia**, se encuentran las radiaciones ionizantes, por ejemplo, las aplicadas en la región de la cabeza para el tratamiento de algunas neoplasias (González-Medina M. A., 2011). Algunas enfermedades autoinmunes, también pueden producir destrucción progresiva de las glándulas salivales y disminuir la secreción salival, como ocurre en el Síndrome de Sjögren, descrito en los humanos (Mariette X. et al, 2004) (123) y en algunas enfermedades endocrinas, como en la diabetes tipo 2 (Balasubramanian et al, 2012). Existen estudios en personas, que demuestran que la edad, el sexo, el número de dientes presentes en la boca, la hora del día, etc., influyen en la producción de saliva. En cuanto a, se ha comprobado que con la edad avanzada se produce un descenso en la producción de saliva total no estimulada, ya que la secreción de las glándulas

submaxilares y sublingual puede estar ligeramente disminuida, no ocurre así con las parótidas. En cambio se ha visto que a edades avanzadas se sigue manteniendo una buena respuesta a la estimulación salival (Cohen-Brown y Ship, 2004; Dodds et al, 2005)

Existen multitud de medicamentos que pueden alterar la secreción de saliva, como los antihistamínicos, anticonvulsivos, que producen hiposalivación.

El incremento en la producción de saliva, puede producirse fisiológicamente durante el periodo de la erupción dentaria, que se relaciona con una hiperestimulación de los receptores periféricos de la mucosa oral, también durante la primera mitad del embarazo y durante la ovulación, así como con los estímulos olfativos, mecánicos, como la masticación y gustativos como los ácidos o los dulces, se produce una hiperestimulación de la secreción salival. Entre las causas patológicas de sialorrea se encuentran las de origen bucal, tales como la colocación de prótesis en sus fases iniciales, el dolor dental, o cualquier proceso inflamatorio o irritante en el aparato oro-faríngeo o digestivo.

Algunas enfermedades neurológicas como la enfermedad de Parkinson, la epilepsia, la encefalitis o algunos tumores pueden ser causa de sialorrea, así como las intoxicaciones exógenas por plomo, bismuto, mercurio, plata, oro o arsénico y las endógenas como la uremia, el uso de determinados medicamentos como la pilocarpina, los inhibidores de la colinesterasa, los agonistas colinérgicos, el litio, los yoduros, los mercuriales o la L-dopa, el hiperparatiroidismo, algunas fases de procesos infecciosos graves.

2.9.1.1. Funciones de la saliva

- ***Digestiva y de fonación:***

Las mucinas tienen un efecto lubricante en la formación del bolo alimenticio y en la emisión de sonido o fonación. El agua de la saliva tiene un efecto disolvente y aumenta la percepción del gusto. La saliva contiene α -amilasa, pero esto apenas repercute en el proceso digestivo debido a que el tiempo que el alimento está en la boca es muy breve. Otra enzima de la saliva es la lipasa lingual, que es importante en el recién nacido, debido a la inmadurez pancreática fisiológica que presenta.

- **Mantenimiento del Equilibrio Hídrico:**

La sensación de la llamada “boca seca” que desencadena el mecanismo de la sed cuando se produce hiposalivación, hace que la saliva sea un medio de control para el mantenimiento del equilibrio hídrico.

- **Acción antimicrobiana:**

A pesar de la presencia de bacterias en la boca, las heridas en la misma rara vez se infectan, esto se debe a una serie de efectos antimicrobianos:

- 1) **La acción físico-mecánica** que se produce por efecto del barrido de las bacterias de la boca, que al llegar al estómago son destruidas por el jugo gástrico.
- 2) **La saliva posee inmunoglobulinas** (Ig) A, G, M (aunque son menos activas que en el plasma) y ciertos elementos del complemento del plasma.
- 3) **Por la acción de sus enzimas** lisozima (hidroliza las uniones 1-4 entre el ácido N-acetil murámico y N- acetilglucosamina, de las paredes bacterianas), peroxidasa (reacciona con el peróxido de hidrógeno producido por el metabolismo bacteriano y se libera oxígeno, letal para las bacterias anaerobias), lactoferrina (quela Fe, elemento nutritivo esencial para las bacterias).
- 4) **Por la acción del fluido gingival (FG).** Es el líquido que emerge entre el diente y el epitelio, cuando no existe enfermedad periodontal, se trata de un transudado de fluido intersticial del tejido gingival, ultrafiltrado del plasma debido a la existencia de un gradiente osmótico, y con menor cantidad de proteínas que el plasma. En individuos sanos, posee una mezcla compleja de proteínas, inmunoglobulinas, iones, interleucina 1- α , prostaglandinas, enzimas y algunas hormonas, leucocitos, células estructurales del periodonto y bacterias orales, y por lo tanto, es rico en proteínas. Actúa como arrastre mecánico, mantiene la estructura del epitelio de unión, mejora la adhesión del epitelio al diente, y debido a su composición posee propiedades antimicrobianas e inmunológicas.

- **Mantenimiento de la integridad de las mucosas y de las piezas dentarias:**

La limpieza físico-mecánica que realiza la saliva es fundamental para el mantenimiento de la integridad de las mucosas y de las piezas dentarias de la boca.

Las mucinas y glucoproteínas de la saliva lubrican y protegen las mucosas. Por otro lado, Las glándulas submaxilares están integradas a la red de intercomunicación neuro-inmuno- reguladora. ellas se producen cantidades significativas de factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor transformante- β de crecimiento y calicreína, los cuáles son secretados a la saliva y actúan sobre la inmunidad de los tejidos epiteliales de las mucosas y las terminaciones nerviosas del tracto gastrointestinal. Estos factores desempeñan un papel importante en la respuesta inmuno-inflamatoria de las mucosas, ayudando de forma importante en su regeneración y curación. Estas sustancias son liberados desde las glándulas submaxilares al torrente sanguíneo, donde actúan como inmunoreguladores sistémicos y también actúan sobre el sistema neuroendócrino central. Por todo esto las glándulas salivales han sido catalogadas como órganos endócrinos.

La saliva también ejerce un efecto de mantenimiento sobre las Piezas dentarias gracias a su propiedad buffer o amortiguadora en la regulación del ambiente iónico lo que le confiere un potencial de remineralización sin precipitación espontánea, y además interviene en la maduración post-eruptiva del esmalte, y en la formación de la película adquirida sobre la superficie del esmalte o adamantina.

- **Regulación del pH salival. Efecto Buffer:**

Constantemente se forman ácidos orgánicos en los organismos vivos, que son productos resultantes de las reacciones metabólicas. Estos ácidos, modifican la concentración de protones del medio. El mantenimiento del pH de los medios biológicos es fundamental para el mantenimiento de los procesos vitales.

La saliva interviene en el mantenimiento neutral del pH de la cavidad oral, de la placa bacteriana y del esófago. Tanto en la cavidad oral como en el esófago el mayor efecto regulador del pH se produce durante la ingesta de alimentos sólidos y líquidos gracias al bicarbonato salival, cuya concentración varía directamente con la velocidad del flujo salival. En reposo, el contenido de bicarbonato es bajo. los péptidos ricos en histidina y los fosfatos, potencian la acción buffer de la saliva.

En la placa bacteriana la producción de ácidos es el resultado natural del catabolismo de carbohidratos por las bacterias. El bicarbonato, el fosfato, y los péptidos ricos en histidina actúan directamente como buffers y ellos se difunden dentro de la placa.

El potencial "buffer" de la saliva se debe fundamentalmente a 2 parejas iónicas $\text{CO}_3\text{H}_2 / \text{CO}_3\text{H}^-$ y $\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, en este mismo orden de importancia.

En la saliva estimulada se incrementa la composición relativa de las bases de ambos sistemas buffer (CO_3H^- y HPO_4^{2-}).

- **Regulación del ambiente iónico. Efecto antiplaca:**

La concentración de **calcio** en la saliva total es ligeramente menor a la del plasma. Un 75% se encuentra como calcio libre (iónico), otro 15% ligado a proteínas y a otras macromoléculas salivales y el 10% restante formando parte de fosfato monoácido o diácido de calcio, de carbonato ácido de calcio, de fosfato ácido de calcio dihidratado y de fosfato octacálcico pentahidratado $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4^4)6.5\text{H}_2\text{O}$. La concentración de las distintas sales cálcicas varía con el pH salival pues se transforman unas en otras, aunque siempre sumando el 10% del calcio salival. A un pH por encima del promedio comienza a predominar la forma de fosfato octacálcico.

Los **fosfatos** en la saliva tienen una concentración mayor que en el plasma (aproximadamente 10 veces más). Un 10% aparece como ATP, fosfolípidos, y ésteres de glucosa, un 60% en formas iónicas salinas (excluyendo las sales cálcicas), un 10% como pirofosfato y un 20% en las sales cálcicas antes descritas.

La distribución de los iones Calcio y Fosfatos en la saliva no es homogénea. En la saliva submandibular el Calcio está significativamente más alto que en la saliva de la parótida, lo que podría ser la causa de la mayor presentación de cálculos en la superficie lingual de los dientes anteriores inferiores. Por el contrario el fosfato inorgánico está es mas alto en la saliva de la parótida que en la submandibular.

El calcio y el fósforo salival son por lo tanto potencialmente capaces de precipitar para producir la calcificación de la "placa bacteriana y formar el cálculo dental.

En la saliva mixta se encuentra también un fosfopéptido de 47 aminoácidos llamado estaterina, que junto con trazas de pirofosfato evita la formación de cristales de fosfato cálcico en glándulas y conductos salivales, aún cuando la saliva esté saturada de calcio y fosfato. La estructura de la estaterina permite interactuar con iones por una parte, y presentar una zona hidrófoba por otra, impidiendo la poliinteracción iónica. (FOUBA, s. f.).

- **Acción de la película adquirida (PA):**

La PA es un film que se forma en pocos minutos sobre los cristales de hidroxiapatita (HA) tras un cepillado dental. Se produce por la interacción de la saliva con los dientes. Mientras cualquier bacteria se puede unir inespecíficamente por interacción electrostática a los cristales de HA, la presencia de la PA modifica la adhesión bacteriana cualitativamente y cuantitativamente en las fases iniciales de la formación de la placa bacteriana. Evitando la la formación del biofilm con diversas bacterias que posteriormente favorecerán otras patología como la caries o la enfermedad periodontal. la PA contiene concentraciones mucho más altas de calcio y fosfatos que la saliva, formando una interfase de protección entre la superficie dental y el entorno oral, actuando como una barrera de permeabilidad selectiva que regula los procesos de mineralización y desmineralización.

La HA, que a pH 6.5 presenta carga neta positiva, atrae rápidamente a las bacterias, que en su mayoría presenta carga neta negativa en la superficie debido al ácido teicoico. Cuando se forma la PA, la superficie pasa a tener carga neta negativa. En este momento, la adhesión bacteriana va a depender del balance entre la repulsión electrostática, las fuerzas de Van der Waals y las interacciones hidrofóbicas. Este tipo de agregación promueve la unión de bacterias de la flora normal e impide la adhesión de las patógenas (Bernimoulin, 2003).

La PA tiene una función protectora del esmalte frente al ácido láctico procedente de la placa bacteriana una vez que ésta se forma. También realiza una función protectora frente al ácido clorhídrico de los jugos gástricos y frente a la erosión del esmalte (FOUBA, s. f.).

La **composición de la PA supragingival** es diferente a la subgingival, ya que la última dependerá del fluido gingival y crevicular. El fluido gingival posee una alta

concentración de proteínas séricas. La película subgingival también influye en la colonización bacteriana inicial de la superficie radicular.

Albúmina e IgG son las principales proteínas séricas del fluido gingival. Sin embargo, el orden decreciente La **composición de la película subgingival** es: albúmina, IgA, IgG, e IgM, lo que indicaría una adsorción selectiva de las proteínas del fluido gingival a la superficie dentaria, al igual que en la PA supragingival (Bernimoulin, 2003). Las propiedades inmunológicas del fluido gingival se han atribuido al contenido de inmunoglobulinas, que se sabe poseen actividades específicas contra microorganismos presentes en el surco gingival.

- **Efecto proinflamatorio:**

Gracias a la presencia en la saliva de prostaglandinas y leucotrienos.

- **Proteolítica:**

Debido a que presenta metaloproteinasas de la matriz (MMPs) también tiene efectos proteolíticos en el sitio de la inflamación (Back et al, 2007).

- **Efecto Antioxidante:**

El cuerpo contiene una serie de mecanismos **de protección antioxidante**. Debido a su composición, La saliva también es rica en antioxidantes, y podría tener un papel importante en el control y / o la **modulación de los daños oxidativos** en la cavidad oral , por lo que la saliva podría ser la primera línea de defensa o barrera contra el estrés oxidativo (Okabayashi, 2006; Back et al 2007; Greabu, 2007).

Recientemente se han llevado a cabo estudios que demuestran como la Capacidad Antioxidante Total de la saliva influye notablemente en las **caries** de los humanos (Ahmadi-Motamaye, 2013).

2.9.1.2. La saliva como medio diagnóstico

La presencia en la Saliva de multitud de sustancias que llegan desde la sangre por diferentes rutas, confiere a esta la posibilidad de ser usada como medio diagnóstico sencillo, poco invasivo y poco cruento.

Existen dos Rutas de acceso hasta la saliva de sustancias que no forman parte habitual de la misma, estas son:

- **Intracelulares:** las mas habituales son la difusión pasiva y el transporte activo.
- **Extracelulares:** La ultrafiltración a través de las estrechas uniones celulares es el camino mas conocido.

Muchas moléculas pueden llegar hasta la saliva desde el suero, bien atravesando la barrera capilar, el espacio intersticial o las membranas de las células acinares o ductales hasta el conducto excretor, o bien a través del fluido crevicular o gingival. Esto hace posible el diagnóstico de multitud de patologías y enfermedades a través del análisis de la saliva (Haeckel et al, 1993).

Su aplicación en el diagnóstico preventivo sobre el riesgo de padecer caries (Llena y Bagan, 2004). Se puede detectar la presencia de algunas bacterias como son el *S. mutans* y *Lactobacillus* spp o la posibilidad o la presencia de ácido láctico, causante de la desmineralización subsuperficial que da origen al inicio de la lesión de caries (Llena et al, 2004).

Enfermedades hereditarias como la fibrosis quística, considerada como una exocrinopatía caracterizada por una alteración en el transporte de electrolitos en las células epiteliales y la secreción de un moco viscoso por parte de las glándulas y los epitelios, asocia una elevación en el contenido de sodio, cloro, calcio, fosfato, lípidos y proteínas en la saliva de las glándulas submaxilares, así mismo se encuentra en la saliva de estos pacientes la presencia de un factor de crecimiento epidérmico con actividad biológica pobre, con respecto al de las personas sanas y una elevación de la prostaglandina E2 (Slomiany, 1982).

Para el diagnóstico de la enfermedad celiaca, la detección en saliva de IgA y anticuerpos antigliadina muestra una alta especificidad y una baja sensibilidad, al contrario de lo que sucede con las determinaciones en suero que son altamente sensibles y menos específicas (Rujner J. et al, 1996)

En la deficiencia de 21-hidroxilasa se ha encontrado una alta correlación en los niveles salivales de 17-hidroxiprogesterona con los del suero. En el síndrome de Sjögren, se acepta como procedimiento diagnóstico la biopsia de las glándulas salivales menores, en la que se encuentra un infiltrado inflamatorio predominante de linfocitos CD4, junto a una reducción del flujo en reposo y estimulado, cuantitativamente se encuentra un aumento de la concentración de sodio, cloro, Ig A, Ig G, lactoferrina, albúmina, β 2 microglobulina, cistatina C y S, lípidos y mediadores de la inflamación como la prostaglandina E2, el tromboxano B2 y la interleucina-6; también pueden detectarse en la saliva autoanticuerpos frente a IgA, Ig G e IgM (Tishler, 1999).

En algunas enfermedades malignas, existen marcadores que pueden ser detectados en la saliva, como por ejemplo: la presencia de anticuerpos frente a la proteína p53 en pacientes con carcinoma oral de células escamosas, o niveles elevados de defensina-1 positivamente correlacionados con los niveles en el suero. La presencia del marcador tumoral c-erbB-2 en la saliva y el suero de mujeres con cáncer de mama, frente a su ausencia en mujeres sanas es un elemento prometedor para el diagnóstico precoz de esta enfermedad. En el cáncer de ovario también puede detectarse en la saliva el marcador CA 125, con una mayor especificidad y menor sensibilidad que sus valores en el suero (San Román, 2006).

La presencia de helicobacter pylori en la saliva evidenciada mediante PCR, presenta una alta sensibilidad, los estudios demuestran que la vía de transmisión oral-oral de esta bacteria puede ser muy importante en los países desarrollados (Cohen, 1962). La presencia de anticuerpos frente a otros agentes infecciosos como la Borrelia burgdorferi, Shigella o Tenia Solium pueden ser detectados a través de la saliva.

Con respecto a algunas enfermedades víricas, hay que señalar que la detección en la saliva del antígeno de la hepatitis A y del antígeno de superficie de la hepatitis B, se ha utilizado en estudios epidemiológicos, así como la presencia de anticuerpos del tipo Ig M e Ig G frente a ambos tipos de hepatitis. Existen medios comercializados para la determinación de anticuerpos frente al virus de la hepatitis B y C con una sensibilidad y especificidad del 100% (Cohen, 1962), La saliva también ha sido utilizada para la detección de anticuerpos frente al virus de la rubéola, parotiditis y sarampión. En los recién nacidos la presencia de IgA es un excelente marcador frente a la infección por rotavirus. Algunas investigaciones sugieren que la reactivación de las infecciones por virus del herpes tipo-1, está relacionada con la patogenia de la parálisis de Bell y que la detección mediante PCR del virus en saliva sería un método adecuado para la

detección precoz de las reactivaciones de esta enfermedad (Wise et al, 2008). La presencia de anticuerpos frente al VIH, es tan precisa en la saliva como en el suero y aplicable tanto en estudios clínicos como epidemiológicos, la presencia de anticuerpos frente al virus, y de componentes virales en la saliva pueden ayudar en el diagnóstico de la infección aguda, de la infección congénita y de las reactivaciones de la infección (Emmons, 1997).

La determinación de algunas drogas en saliva va a depender de su concentración en sangre, de su capacidad de difusión, liposolubilidad y tamaño de molécula. Se ha utilizado la saliva para monitorizar los niveles de litio, carbamacepina, barbitúricos, benzodiazepinas, fenitoína, teofilina y cicloporina. Así mismo, la concentración de etanol en la saliva guarda una alta correlación con los niveles en suero. La presencia de tiocianato en la saliva es un excelente indicador de la condición de fumador activo o pasivo. Otras drogas como la cocaína o los opiáceos también pueden detectarse en la saliva (Navazesh et al, 2002).

La presencia de algunas hormonas como el cortisol, la aldosterona, la testosterona, el estradiol o la insulina, pueden detectarse en la saliva con una alta correlación con sus concentraciones en suero, en general las hormonas de menor peso molecular y liposolubles son las que se van a poder detectar en la saliva con mayor fiabilidad, las cuales van a llegar por ultrafiltración o por difusión pasiva, mientras que las unidas a proteínas no van a poder encontrarse ya que el transporte activo hacia la saliva no existe (Kaufman et al, 2002).

Así pues, el uso de la saliva como alternativa para el diagnóstico o como elemento para monitorizar la evolución de determinadas enfermedades o la dosificación de determinados medicamentos es una vía prometedora, incrementándose su atractivo para el diagnóstico mediante la comercialización de test de uso sencillo, por otro lado la accesibilidad y la ausencia de métodos cruentos para obtener la muestra son otras de las ventajas que ofrece la saliva como instrumento diagnóstico.

2.10. Mediadores inflamatorios y estrés oxidativo

Como ya se ha visto anteriormente, la **erupción dental** es un complejo proceso fuertemente regulado que involucra a células de las estructuras dentarias y de los alveolos que las rodean para la que se han postulado numerosas teorías para explicar los mecanismos de la erupción de los dientes.

En la actualidad, la teoría más aceptada es que la remodelación ósea asimétrica alrededor del diente es la responsable de que los dientes se muevan dentro de la cavidad oral. Hay resorción en el lado coronal y formación de hueso en el lado apical (basal)(Marks y Schoreder, 1996; Wise y King, 2008). De tal manera que el movimiento dentario que se produce durante la erupción se ha comparado al que se produce cuando se lleva a cabo un tratamiento ortodóncico.

Mientras que el movimiento ortodóncico se produce por la aplicación de una fuerza (King et al 1991), en la erupción dental, el movimiento obedece a un proceso de desarrollo fisiológico (Wang, 2013).

La **inflamación** es una reacción histopatológica en la cual existe acúmulo de líquido y leucocitos circulantes en los tejidos en respuesta a una lesión o infección. No solo puede implicar factores locales (como edema en la zona afectada), sino también sistémicos (como fiebre o un aumento de síntesis de algunas proteínas de fase aguda). Está íntimamente ligada a los procesos de reparación y cicatrización tisular, de hecho no puede haber cicatrización sin inflamación previa.

Los cuatro “signos cardinales” de la inflamación descritos por Celso en el siglo I siguen siendo válidos hoy día: tumor, rubor, dolor y calor.

La inflamación se origina en los vasos sanguíneos y produce acumulación de líquidos y leucocitos en el tejido extravascular. La inflamación puede ser aguda y crónica. La aguda es de corta duración y en ella se produce migración de leucocitos, sobre todo de neutrófilos. La inflamación crónica presenta una acción mas prolongada en el tiempo, en ella se observa la presencia de linfocitos y macrófagos además de proliferación de tejido conjuntivo y de vasos sanguíneos. Existe una serie de factores químicos que actúan como mediadores en la respuesta vascular y celular de la

inflamación aguda y crónica. Estos mediadores inflamatorios son derivados del plasma o de células y se producen por el estímulo inflamatorio. La inflamación termina cuando desaparece el estímulo y se disipan o inhiben las acciones de los mediadores inflamatorios (Wang , 2011).

La inflamación producida en el ligamento periodontal cuando se aplica una fuerza ortodóncica, produce la liberación de mediadores químicos implicados en los procesos de reabsorción y formación del hueso, necesarios para el movimiento dental. Los mediadores plasmáticos, como el complemento, deben ser activados para adquirir sus propiedades biológicas. En cambio, los mediadores procedentes de células, pueden almacenarse dentro de gránulos, Como ocurre con la histamina, o deben sintetizarse de nuevo, como ocurre con las citoquinas. Las principales fuentes celulares de mediadores son: las plaquetas, los neutrófilos, los monocitos/macrófagos y los mastocitos.

Durante el movimiento dental se produce una remodelación ósea, en la que parecen estar implicados factores sistémicos, como la calcitonina y las vitaminas, y factores Locales, como factores de crecimiento, metabolitos del ácido araquidónico y citoquinas. Los factores locales, involucran a mediadores químicos que se liberan durante el proceso inflamatorio. Los mediadores químicos que parecen tener mayor relevancia son: Citoquinas, aminos vasoactivos, proteasas, sistema de complemento, segundos mensajeros, sistema de la coagulación y metabolitos del ácido araquidónico.

En la fase inicial de la inflamación, deben estar presentes: La histamina y las anfilatoxina (C3a y C5a), las quininas, los leucotrienos C, D, E, y el factor de activación plaquetaria. Por otra parte, el fragmento de complemento C5a, productos de la lipoxigenasa (LTB4) y otros lípidos, deben estar presentes para la quimiotaxis.

Las prostaglandinas ejercen un papel importante en la vasodilatación y desencadenamiento del edema y proceso febril. Los agentes que causan mayor destrucción tisular son los radicales derivados del oxígeno y los productos lisosómicos. El óxido nítrico está presente en la vasodilatación y en la citotoxicidad, y las citoquinas están implicadas en la interacción entre leucocitos y endotelio vascular, y en las reacciones de fase aguda (León, 2011).

Las elevaciones en los neurotransmisores del ligamento periodontal (CGRP y la sustancia P). Por otra parte, estos tienen la capacidad de producir vasodilatación y

aumento de la permeabilidad de los vasos, acompañado por la proliferación de células endoteliales y fibroblastos (Wise y King, 2008).

La liberación de citoquinas pro-inflamatorias y enzimas lisosomales que promueven la resorción de tejido en los sitios de compresión está bien documentada. Las prostaglandinas, IL-1, IL-6, TNF, y receptor activador del factor nuclear kappa B ligando (RANKL) están elevados en el ligamento periodontal durante el movimiento dental (Yamaguchi y Kasai, 2005).

Las metaloproteasas de matriz (MMP) y sus inhibidores (TIMP) aumentan transitoriamente durante el movimiento ortodóncico de los dientes. Sin embargo estos genes, se comportan de forma diferente en la zona de tensión que en la de compresión (Wise y King, 2008).

2.10.1. Citoquinas

Etimológicamente el término Citoquinas, viene del Griego “Cyto”, célula y de “Kynes”, movimiento. Son una variedad amplia y flexible de pequeñas proteínas o polipéptidos solubles, que forman uno de los grupos mas grandes de señales de comunicación. Influyen en la actividad de células por vías autocrinas, paracrinas u hormonales. Se encargan de dictar la progresión controlada de la respuesta inmune-inflamatoria. Se denominan de manera diferente según el tipo de célula a que haga referencia, por ejemplo: se utiliza el término de “monoquina”, para hacer referencia a la derivada del monocito y linfoquina para la derivada del linfocito. El término citoquina, sin embargo es mas adecuado utilizarlo cuando se hace referencia a la Inflamación, cuyas proteínas derivan de diferentes células. Dentro de las Citoquinas se incluyen: el Factor de Necrosis Tumoral (TNF), el Interferón, Los Factores Estimulantes de Colonias (CSF) y los Factores de crecimiento celular (TGF).

Hay abundante evidencia que sugiere que los mecanismos neurovasculares juegan un papel importante en el movimiento de los dientes, a través del desarrollo de una reacción inflamatoria.

Las principales Citoquinas que participan en la Inflamación, son el factor de necrosis Tumoral (TNF), el Factor de crecimiento celular y las interleuquinas:

2.10.1.1. TGF (del inglés *Transformig Growth Factor*):

El **factor de crecimiento celular** es una proteína multifuncional implicada en el control de la proliferación y diferenciación de diversos tipos celulares, actúa como una Citoquina. También puede incrementar la expresión de ciertas citoquinas en las células T y promover su diferenciación, especialmente si las células son inmaduras. Existe al menos como 3 isoformas diferentes: B1, B2 y B3.

La actividad moduladora de la TGF juega un papel importante en el desarrollo biológico, la enfermedad y la regeneración .

Diferentes estudios han puesto de manifiesto su capacidad moduladora en las vías de señalización de la erupción dental. Moriguchi en 2010, en un estudio *in vivo* con ratas, sugiere que el TGF- β , puede inducir la apoptosis celular del epitelio oral durante la formación dentaria, así como la implicación en la misma de las especies reactivas de oxígeno, y las vías de señalización wnt.

Los receptores celulares de TGF son de tipo I y tipo II. Un vez activado el complejo de las proteínas Smad fosforiladas, se traslada al núcleo celular, donde regula la expresión de los genes Target.

La TGF- β se expresa fuertemente en los cementoblastos, y es muy importante en la formación del cemento radicular del diente y en el desarrollo de la raíz. El mediador central para la señalización del TGF- β es el SMAD4. La falta de SMAD4, produce un bloqueo de la señalización de TG/BMPs. La señalización deL TGF/BMPs mediada por la SMAD4, parece ser necesaria en el epitelio dental para el desarrollo y formación de los REM (Xiao-Feng et al, 2012).

2.10.1.2. TNF (del inglés *Tumor Necrosis Factor*):

El **factor de necrosis tumoral** es una hormona glicopeptídica de 185 aminoácidos. Ejerce distintas funciones como son la activación de otros mediadores inflamatorios como las interleuquinas (IL).

Su capacidad para actuar como modulador de las citoquinas ha sido puesta de manifiesto en diferentes estudios. Vara E. Et al, en 1996, sugirió que el TNF- α actúa modulando la producción de Oxido Nítrico secundaria a la de Prostaglandina E2, al

inhibir la síntesis de fosfatidilcolina (PC) en cultivos celulares de neumocitos tipo II humano.

Estudios en Niños, han evidenciado que durante la erupción dentaria, se produce un aumento estadísticamente significativo del TNF en el fluido crevicular (Shapira et al, 2003).

Estudios en ratas más recientes, han demostrado, que la expresión de TNF- α en el folículo dental regula a su vez la expresión de las proteínas morfogenéticas BMP2 y BMP3 y participan en el proceso de erupción dental (Yao, 2010).

2.10.1.3. Interleuquinas:

La IL-1, IL-6 e IL-8 son interleuquinas proinflamatorias que han sido identificadas en las células madres del folículo dental durante los movimientos ortodóncicos (Alhadlaq, 2015).

- ***Interleuquina-1 (IL-1)***

Precisa de un receptor celular, estos pueden ser de 2 tipos: Tipo I y tipo II.

Un gran número de tipos de células han demostrado que poseen receptores de IL-1 *in vitro* e *in vivo*, pero pocos estudios han abordado la cuestión de su expresión en tejidos dentales en individuos vivos.

En estudios de distintos grupos de ratones (recién nacidos, adultos y jóvenes normales) (Xiao-Feng y Yang, 2012) se examinaron los tipos de receptores de IL-1 en los tejidos dentales determinándose que en la capa de ameloblastos de los incisivos y molares, el ARNm para el tipo I de IL-1 receptor (IL-1RI) y el tipo II de IL-1 receptor (IL-1RII) se detectó en la etapa presecretora. El nivel de expresión aumentó notablemente y se mantuvo durante la amelogénesis en la fase secretora. En la etapa de maduración, sin embargo, las transcripciones de IL-1RI tanto y -II mRNA desaparecieron. La expresión de IL-1RI y -II ARNm también se observó en odontoblastos después de la morfogénesis coronal se completase y continuó en estas células durante dentinogénesis. No se detectaron las transcripciones en las células estrato intermedio ni otras células del folículo dental, retículo estrellado, papila dental, o pulpa. Además, también se detectaron ambos tipos de IL-1R mRNA en los osteoclastos en las superficies del hueso alveolar.

Estos resultados sugieren que la IL-1 juega un papel regulador en la función de ameloblastos y odontoblastos durante el desarrollo dental de los ratones.

2.10.1.4. Interleuquina 6 (IL-6):

La IL-6 es de una proteína de 184 aminoácidos más otra zona hidrófoba de señalización de 24. Comparte con IL-11 su receptor, una proteína transmembrana denominada gp130. La unión previa a su receptor específico IL6-R y posteriormente a esta proteína desencadena la activación de tirosín kinasas de la familia JAK que activan fosforilando a una proteína señalizadora llamada STAT3. STAT3 se dimeriza y se desplaza al núcleo celular donde activa la transcripción del ADN.

Sintetizada tanto por el SRE como por linfocitos, pero también por células endoteliales y de diversos epitelios (mucosa digestiva y respiratoria, entre otros). Se trata de una citoquina pluripotencial que actúa en fenómenos de respuesta inflamatoria inespecífica fundamentalmente. Sus activadores principales son IL-1, TNF, LPS y las especies reactivas de oxígeno.

Satrawaha et al, en 2011, determinaron que el efecto producido por un incremento de presión puede inducir la expresión de IL-6 en las células de la pulpa dental humana mediante el receptor P2Y6.

2.10.1.5. Interleuquina-8 (IL-8):

La IL-8 es una citoquina clave para el reclutamiento y la activación de neutrófilos durante la inflamación. Es sintetizada por una variedad de tipos celulares que incluye monocitos, eosinófilos, granulocitos, células tumorales, fibroblastos, queratinocitos, macrófagos, linfocitos T y células endoteliales. Se incrementa por otras citoquinas, como la IL-1 y TNF- α .

La IL-8 es un quimioatrayente de LT CD4+ y CD8+ y neutrófilos, induciendo a estos a expresar β integrinas y a extravasarse a través del endotelio vascular, estimulando su activación y degranulación. A nivel de los basófilos actúa activando e induciendo su migración vaso endotelial. Originalmente identificada como una citoquina quimioatrayente de neutrófilos, en la actualidad se la considera una quimoquina del grupo α , siendo agrupadas por la similitud en su actividad quimioatrayente, utilización de receptor, localización genómica y la presencia de cuatro residuos de cisteína separados

por un aminoácido (Cys-X-Cys-X o C-X-C), siendo secretada como dímero o trímero (Mark et al, 1998).

Esta citoquina IL-8, es producida y liberada por un gran número de células a nivel del tejido pulpar, jugando un papel importante en la activación del proceso inflamatorio.

2.10.1.6. Interleuquina-10 (IL-10):

La interleuquina-10 es una citoquina antiinflamatoria que inhibe la reabsorción del hueso alveolar. La IL-10 es una citoquina producida por macrófagos, células T, células B y queratinocitos, cuya acción está dirigida a inhibir las citoquinas producidas por linfocitos Th1, suprime la función de los macrófagos, especialmente la producción de citoquinas inflamatorias. Favorece la proliferación de linfocitos B y síntesis de inmunoglobulinas y actúa como factor de crecimiento para tumores de células B.45 A nivel de cultivo de células de tejido pulpar humano, ha sido demostrada por medio de RT-PCR, la capacidad de la IL-10 de inhibir la expresión de ARNm de IL-6 e IL-8. (Tokuda et al, 2007)

Liu et al, en 2006, llevó a cabo un estudio con células foliculares tratadas con la IL-10, demostrando que la IL-10 frena la reabsorción ósea mediante el incremento de la expresión de la OPG e inhibiendo la de RANKL y CSF-1.

2.10.2. Especies reactivas del oxígeno y estrés oxidativo

Las **especies reactivas de oxígeno** (ROS, del inglés *Reactive Oxygen Species*), son moléculas que tienen algún electrón desapareado en su órbita externa y no necesitan asociarse a otra molécula para persistir al menos unos nanosegundos. El hecho de tener algún electrón desapareado hace que sean unas moléculas muy reactivas, a pesar de su corta vida, por lo que tienden a unirse a otras moléculas para aparear los electrones libres y estabilizarse (Matsuo et al, 2000). Las ROS son productos del metabolismo oxidativo (Kourie, 1998), formándose por lo tanto como un subproducto natural del metabolismo normal del oxígeno. Estas moléculas se pueden presentar como: peróxidos, superóxido, radicales hidroxilo y oxígeno simple.

Tienen un papel importante en fenómenos fisiológicos como son la homeostasis, la respuesta inflamatoria y la señalización intercelular. Sin embargo, en momentos de

estrés ambiental (por ejemplo, UV o la exposición al calor), los niveles de ROS pueden aumentar dramáticamente (Devasagayam et al, 2004).

El desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y los mecanismos fisiológicos que las neutralizan, es lo que se conoce como **estrés oxidativo**. Este estrés oxidativo puede producir un daño significativo a las estructuras celulares, ya que las consecuencias inmediatas del exceso de especies reactivas de oxígeno son la pérdida de estructura y función de determinadas macromoléculas implicadas en el correcto funcionamiento de la célula (ADN, lípidos estructurales, proteínas, etc.) y por lo tanto, la posible muerte de celular.

Las ROS también son generadas por fuentes exógenas tales como la radiación ionizante (Sosa Torres, 2015). Recientemente se han relacionado con enfermedades tan prevalentes como la aterosclerosis, hipertensión, enfermedades neurodegenerativas, diabetes o el liquen plano oral (Lopez-Jonet P. 2014), entre otras más. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) contribuyen a la generación y mantenimiento del dolor crónico 1-3. Estas incluyen a los radicales libres y a moléculas derivadas del oxígeno de interés biológico con elevada reactividad que son capaces de producir radicales libres en el organismo humano. Las más comunes son el oxígeno singlete (1O_2), radical hidroxilo (HO), radical alcóxido (RO), radical-anión superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl) y peroxinitrito ($ONOO^-$). En condiciones fisiológicas, la producción y reactividad biológica de las ERO se encuentra neutralizada por los mecanismos antioxidantes de tipo preventivo, reparador o secuestrador. Estos se encuentran constituidos por proteínas con núcleos coordinados o con capacidad de enlace de metales, enzimas [glutación peroxidasa (GPx), glutación reductasa (GR), metionina sulfóxido-reductasa (MSR)] y otras enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa o entidades químicas con capacidad secuestradora (ácidos grasos poli-insaturados, ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, flavonoides etc.) respectivamente. El balance oxidativo resulta esencial para la regulación metabólica, la transducción de señales y múltiples funciones biológicas del organismo. Los niveles de ROS contribuyen a importantes vías de señalización claves para regular la respuesta biológica, incluida la migración celular, la mitosis y apoptosis (Goldschmidt-Clermont y Moldovan, 1999).

2.10.2.1. Óxido Nítrico

El óxido nítrico también ha sido implicado en el proceso de la erupción dentaria. El NO se libera en cuestión de segundos en respuesta a la tensión mecánica de los osteoblastos y osteocitos, en su corta vida como radical libre inhibe la resorción y promueve la formación de hueso (Bakker et al, 2001).

Se ha descrito que existen unos mecanismos de reabsorción radicular de los dientes deciduos, y que dicha reabsorción se produce normalmente a pesar de que no exista el germen dentario del diente que le sucede (Harokopakis–Hajishengallis, 2007). En este sentido, se ha podido demostrar en ratas, aplicando fuerzas ortodóncicas, que la expresión de las enzimas **eNos** e **iNOS** en los osteocitos varía con las fuerzas ejercidas por los dientes en los mismos, y se cree que son estas enzimas las que regulan la remodelación ósea a ese nivel. De tal manera que el óxido nítrico (NO) producido por los osteocitos a través de la óxido-sintetasa endotelial (eNOS) y de la óxido-sintetasa inducible (iNOS) es un importante regulador del remodelado óseo durante los movimientos dentales (Tan et al, 2009).

La **hemo oxigenasa (HO)** es una enzima que cataliza la conversión del grupo hemo en biliverdina, Fe^{2+} y monóxido de carbono. Existen dos isoformas de esta enzima: la HO-1 y la HO-2, esta última abunda en cerebro y testículos. Existen evidencias de su importancia en la señalización celular y como sensor de oxígeno, óxido nítrico y monóxido de carbono. (Orozco-Ibarra et al, 2010).

Muchas de las funciones biológicas de la hemo oxigenasa son la citoprotección contra el estrés oxidativo, la vasodilatación, la neurotransmisión en el sistema nervioso central o periférico. También presenta una acción antiinflamatoria, anti-apoptosis o de potencial anti-proliferativo, Estos efectos también se le han atribuido a su subproducto enzimático: el monóxido de carbono (CO).

Estudios recientes revelan que los derivados de la HO y del CO pueden actuar como sensores de oxígeno y moduladores circadianos de la biosíntesis de hemo. En los linfocitos, el CO puede participar en función de las reguladoras de las células T. Muchos de los efectos de señalización conocidos del CO dependen de la estimulación de la guanilato ciclasa soluble y/o activación de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK). Por otra parte, la modulación de la caveolina-1 puede servir como un componente esencial de ciertos aspectos de la acción de CO, como el control del crecimiento. (Kim et al, 2006).

3. Hipótesis y objetivos

Está ampliamente documentado que existen una serie de mecanismos íntimos moleculares que van a determinar la erupción dentaria. Estos mecanismos no han sido del todo elucidados en el perro. Está demostrado que determinados factores moduladores y citoquinas, así como las especies reactivas del oxígeno, el óxido nítrico y sus derivados, están presentes y se producen a nivel del folículo dental y de los tejidos peridentarios. Se ha sugerido su mediación en el proceso de desarrollo, erupción y exfoliación dentaria, en otras especies.

Por otro lado, la saliva es ampliamente utilizada como medio diagnóstico, ya que se sabe que existen mecanismos de paso de las moléculas desde el folículo dental y los tejidos peridentarios a la saliva total, por medio de las glándulas salivares y también por medio del fluido gingival. Las expresiones de estas sustancias también van a excretarse y estar presentes en la encía.

La hipótesis que se plantea es que las citoquinas y otras sustancias inflamatorias, como el óxido nítrico y sus derivados, podrían influir en el desarrollo y erupción dental del perro, así como en los mecanismos de recambio dentario y exfoliación.

El objetivo es tratar de establecer la relación existente entre estas sustancias, la erupción dentaria y los dientes de leche retenidos en la especie canina. Para ello, se han tomado muestras de saliva, encía y plasma de perros de diferente tamaño y en diferentes momentos de su desarrollo dental, así como de aquellos individuos con dientes deciduos retenidos.

Con los resultados obtenidos, se llevará a cabo un estudio estadístico para establecer la posible relación existente entre las sustancias analizadas y el momento del desarrollo dentario en el perro, así como su posible influencia en el fallo de la exfoliación de la dentición decidua.

4. Materiales y métodos

4.1. Animales

El material empleado en este estudio han sido diversos análisis de muestras de suero, saliva y encía de diferentes grupos de perros. Para ello, se han tomado muestras de perros de tres razas: del Yorkshire terrier como modelo de razas de pequeño tamaño, del cocker spaniel Ingles como modelo de raza de perros de tamaño mediano y del labrador como modelo de raza de perros de tamaño grande.

Los animales de estas razas utilizados para las tomas de muestras, han sido seleccionados aleatoriamente de entre las mascotas de clientes que han cumplido los criterios de inclusión, y cuyos propietarios han autorizado voluntariamente a realizar la toma de las muestras de las mismas, con la finalidad de realizar el presente trabajo. Los perros se dividieron en tres grupos diferentes:

- 1) **Grupo control:** perros adultos, que tenían una dentadura definitiva con ausencia de dientes de leche retenidos.
- 2) **Grupo cambiando:** perros de edades comprendidas entre los 3 y los 5 meses de edad y que se encontraban por tanto cambiando las piezas dentarias deciduas por las definitivas.
- 3) **Grupo retenidos:** perros adultos que presentaban uno o varios dientes deciduos retenidos.

Se incluyeron en el estudio un total de 44 perros (n), que según el grupo al que pertenecían, podemos desglosarlos de la siguiente manera :

- **Grupo 1:** Perros con cambio normal de la dentición (*cambiando*, n=7).
- **Grupo 2:** perros con retención de los dientes de leche (*retenidos*, n= 15).
- **Grupo 3:** perros sanos con dentición permanente (*control*, n=22).

De los 44 animales incluidos en el estudio , 32 fueron pertenecientes a la raza Yorkshire terrier, 8 a la raza cocker spaniel y 4 a labrador retriever.

El total de perros con dientes de leche “retenidos” analizados fueron pertenecientes a la raza yorkshire terrier.

En todos ellos, se tomaron muestras de saliva total no estimulada, que se guardó congelada hasta la posterior determinación de citoquinas (IL1, IL6, IL8, IL10, de proteínas reguladoras: Factor de crecimiento transformante, del Inglés “Transforming Groth Factor” (TGF) y el factor de Necrosis Tumoral, del Inglés “Tumor Necrosis Factor” (TNF), el óxido nítrico (NO) y el monóxido de carbono (CO).

En todos los perros se tomó también una muestra de suero, mediante centrifugado de muestra sanguínea, para la determinación de los niveles de las mismas sustancias.

También se tomó un pequeño fragmento de encía para la determinación de la expresión de las enzimas oxido-reductasas: eNOS e iNOS, de las hemo oxigenasas HO-1, HO-2, del TNF y de interleuquinas (IL1, IL6).

4.1.1. Criterios de inclusión y exclusión:

4.1.1.1. Se han incluido:

animales que han cumplido los criterios de edad y raza antes mencionados.

4.1.1.2. Se han excluido a los animales con:

dentadura de leche o edades inferiores al cambio de dentición (<3 meses).

Cualquier enfermedad sistémica o local de la cavidad oral, como gingivitis o enfermedad periodontal.

Anomalías del desarrollo diferentes a la retención de dientes deciduos, como son:

Anomalías de la oclusión, tanto dental como esquelética que no fuese la puramente derivada de la retención de dientes deciduales.

Dientes supernumerarios, fusiones o gemaciones apreciables. Macrodoncias omicrodoncias, etc.

4.2. Toma de muestras

De los tres grupos de perros establecidos se tomaron muestras de suero, de saliva y de encía, es decir, se tomaron un total de 132 tomas de muestras, que se llevaron a cabo de la siguiente forma :

- **Muestras de suero:**

Para la obtención del suero procedimos a extraer un volumen de sangre suficiente para depositar en tubo de suero heparinizado adecuado al tamaño del animal, para inmediatamente después proceder a su centrifugado (3000 x g, 10 min.), y la obtención de suero del mismo.

- **Muestras de saliva:**

La saliva obtenida en ningún caso fue estimulada para evitar variar el pH de la misma, por lo que el método utilizado para la obtención de la misma fue la aspiración con jeringa de insulina del interior de la cavidad oral (**Fig. 22**).



Fig. 22: Toma de muestra de saliva

- **Muestras de encía:**

La toma de muestras de encía se llevó a cabo mediante el empleo de *punchs* de biopsia de distintos tamaños en función de la raza del perro. La muestra de encía se tomó habitualmente de la papila o zona próxima al cuello dentario de la encía rostral (**Fig. 23**).



Fig. 23: Toma de muestra de encía

4.2.1. Conservación de las muestras:

.El plasma, la saliva y los fragmentos de encía, se guardaron congelados a temperatura igual o inferior a -60°C hasta el momento de las determinaciones bioquímicas, este periodo de congelación siempre fue inferior a 6 meses.

4.3. Determinaciones realizadas y métodos:

4.3.1. Óxido Nítrico (NO)

Se determinó como contenido de nitrito + nitrato (NO₂-+ NO₃-). Para ello, las muestras se desproteinizaron por adición de ácido sulfosalicílico y se incubaron durante 30 minutos a 40°C. Tras centrifugación a 12000 x g durante 20 minutos, se separó el sobrenadante y se incubó en presencia de nitrato-reductasa para la reducción de nitrato a nitrito. A continuación se añadió a las muestras reactivo de Griess (0,5% naphthylethylenediamine dihydrochloride, 5% sulfonilamide, 25% H₃PO₄). La reacción se llevó a cabo a 22°C durante 20 minutos, y se leyó su absorbancia a 546 nm utilizando una solución de NaNO₂ como estándar (Vara et al, 1996).

4.3.2. Monóxido de carbono (CO)

Para cuantificar la cantidad de CO formada, se añadió a todas las muestras hemoglobina y se determinó la proporción de carboxi-hemoglobina (CO-Hb) espectrofotométricamente según el método de Omura y Sato modificado (Wolff, 1976).

Para ello la hemoglobina (4µM) se dejó reaccionar con las muestras durante 1 minuto para asegurar la máxima unión de CO. A continuación las muestras se diluyeron con tampón fosfato (0,01M KH₂PO₄/K₂HPO₄, pH 6,85) conteniendo 2 mg/ml ditionito sódico, y tras 10 minutos a temperatura ambiente se leyó su absorbancia a 420 y 432 nm frente a una cubeta conteniendo sólo tampón.

Para calcular la fracción de CO-Hb (SCO), se usó la siguiente ecuación:

$$S_{CO} = \frac{(A_{432} \cdot E_{420}^{Hb}) - (A_{420} \cdot E_{432}^{Hb})}{[A_{420} \cdot (A_{432}^{COHb} - A_{432}^{Hb})] - [A_{432} \cdot (A_{420}^{COHb} - A_{420}^{Hb})]}$$

Donde A es la absorbancia medida a la longitud de onda indicada, y E es el cociente de extinción molar (Rodkey et al, 1979).

4.3.3. Citoquinas (TNF, TGF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10)

Se midieron por un método inmunoenzimático utilizando *kits* comerciales específicos (Biosource International)

El fundamento de este método se basa en la unión específica de la citoquina contenida en la muestra a anticuerpos monoclonales específicos inmovilizados sobre la superficie de placas de titulación. Para ello las muestras y estándares apropiados se incuban con el anticuerpo. Después de un lavado para eliminar todas las sustancias no unidas que pudiesen interferir con el ensayo, se añade un segundo anticuerpo específico para el primero y conjugado con biotina y se realiza una segunda incubación.

Tras la eliminación por lavado del segundo anticuerpo no unido, se incubaron de nuevo en presencia de un complejo estreptavidina peroxidasa y se cuantificó la citoquina unida por una reacción enzimática que originó cambios de color detectables en el espectrofotómetro.

4.4. Expresión de citoquinas (TNF- α , TGF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10), nitrato sintasas (eNOS, iNOS), hemo oxigenasas (HO-1, HO-2)

Se realizó por Western *blot* utilizando anticuerpos específicos: monoclonal anti-human TNF α (Endogen), monoclonal anti-IL1 β y anti-IL6 (Bio Génesis), rabbit anti-nitric oxide Synthase I, anti-nitric oxide Synthase II y anti-nitric oxide Synthase III policlona antibody (Chemicon International, Inc.), rabbit anti-Heme Oxigenase I y anti-Heme Oxigenase II policlona antibody (Chemicon International, Inc.)

Las muestras se homogeneizaron en tampón de lisis (100mmol/L NaCl, 10mmol/L TRIS-Cl (pH 7,6) 1mmol/L EDTA (pH 8), 1 μ g/ml aprotinina, 100 μ g/ml PMSF). Todas las muestras se diluyeron (1:1) con tampón 2X (100mmol/L TRIS-HCl (pH 6,8), 4% SDS, 20% glicerol, 0,1 azul de bromofenol, 200mmol/L ditioneitol) y se hirvieron 10 minutos a 100oC. Para corregir posibles variaciones en el tamaño de las muestras se determinó la concentración de proteínas por el método de Bradford (Bradford, 1976).

Cantidades equivalentes de proteína se sometieron a electroforesis en gel de SDS poliacrilamida (10%). Una vez separadas las proteínas, eran transferidas a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, Mississauga, Ontario) a la que quedan unidas irreversiblemente y donde son más accesibles a los anticuerpos específicos. A continuación las membranas se incubaron 90 minutos a 37oC en un buffer (20mmol/L TRIS, 150 mmol/L NaCl, 0,2% Noninet P 40, 5% leche desnatada) para bloquear la unión inespecífica, y después se incubaron 60 minutos a 20oC en presencia de anticuerpos primarios específicos. Tras un lavado para eliminar el anticuerpo no unido, las membranas se incubaron de nuevo durante 60 minutos a 20oC en presencia de un anticuerpo secundario que reconoce inmunoglobulinas de conejo, acoplado covalentemente a una peroxidasa (horseradish peroxidase-conjugated polyclonal anti-rabbit IgG secondary antibody, Transduction Lab, Lexington, KY).

Tras el lavado de las membranas las proteínas se visualizaron mediante quimioluminiscencia (ECL system, Amersham, Oakville, Ontario).

4.5. Análisis estadístico:

El total de análisis llevados a cabo en cada muestra de Saliva y de Suero sanguíneo fue de 8 (TGF, TNF, NO, IL1, IL6, IL8, IL10, CO) y de 7 sobre las muestras de encía (TNF, IL1, IL6, eNOS, iNOS, HO1, HO2), lo que hace un total de 23 determinaciones laboratoriales llevadas a cabo para cada uno de los animales incluidos en el estudio.

Esto supone que finalmente se llevaron a cabo un **total de 23** pruebas x 44 animales, lo que es igual a: **1.012 determinaciones de muestras realizadas** entre mediadores y sus expresiones.

Los resultados se han expresado como Media \pm ESM (error estándar de la media).

Los análisis estadísticos se han realizado mediante la comparación de medias por métodos no paramétricos. Para las comparaciones entre grupos se ha empleado el test de Crucial-Wallis de análisis de la varianza por rangos, seguido en caso de dar significación, del test de May-Whitney para muestras independientes, con el fin de identificar el origen de las diferencias. Se llevó a cabo un estudio estadístico, comparando los distintos grupos, para cada uno de los parámetros analizados, lo que hace un total de **23 estudios estadísticos realizados**.

Se consideraron resultados significativos y muy significativos unas confianzas superiores o iguales al 95% ($p < 0.05$) y 99% ($p < 0.01$) respectivamente.

5. Resultados

5.1. Suero

5.1.1. Óxido Nítrico

Los valores de óxido nítrico obtenidos en el suero del grupo de perros con dientes deciduos retenidos fueron significativamente inferiores al del grupo de perros Control (Fig. 24).

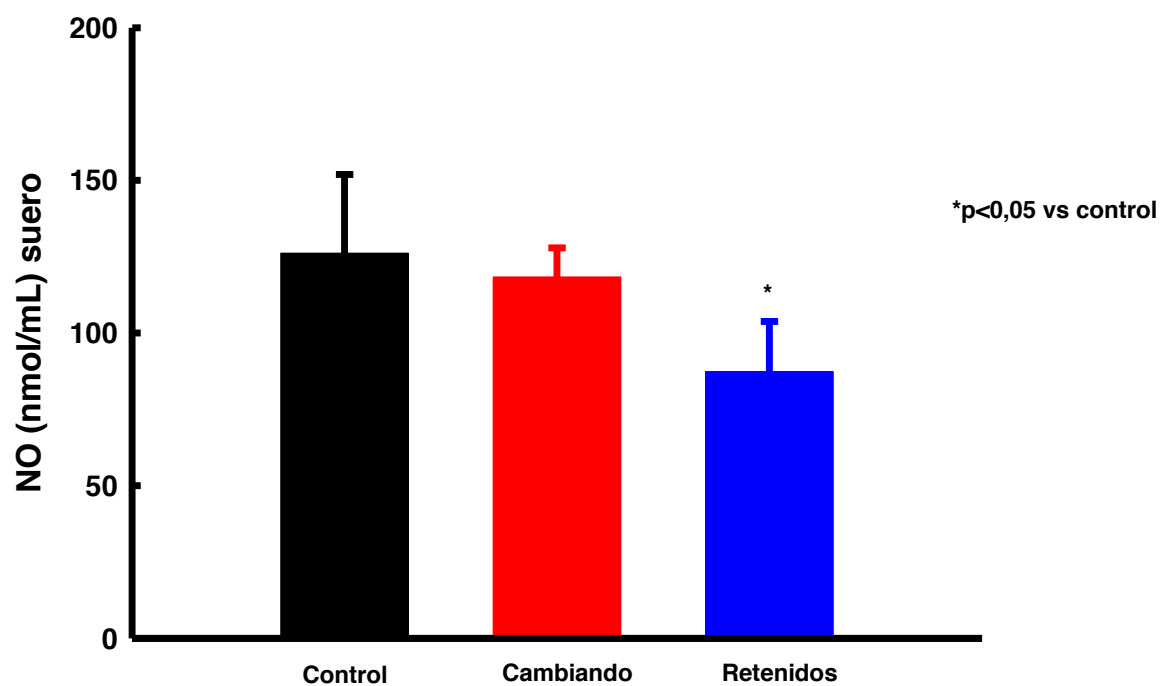


Fig. 24: Valores de NO en suero de los grupos de estudio.

5.1.2. Monóxido de Carbono

Los valores de Monóxido de Carbono (CO) obtenidos en el suero de los diferentes grupos no fueron significativamente diferentes, siendo ligeramente inferiores en el grupo de perros control que en el grupo de perros con cambio de dentición y éstos a su vez ligeramente inferiores a los del grupo con dientes deciduos retenidos (**Fig. 25**).

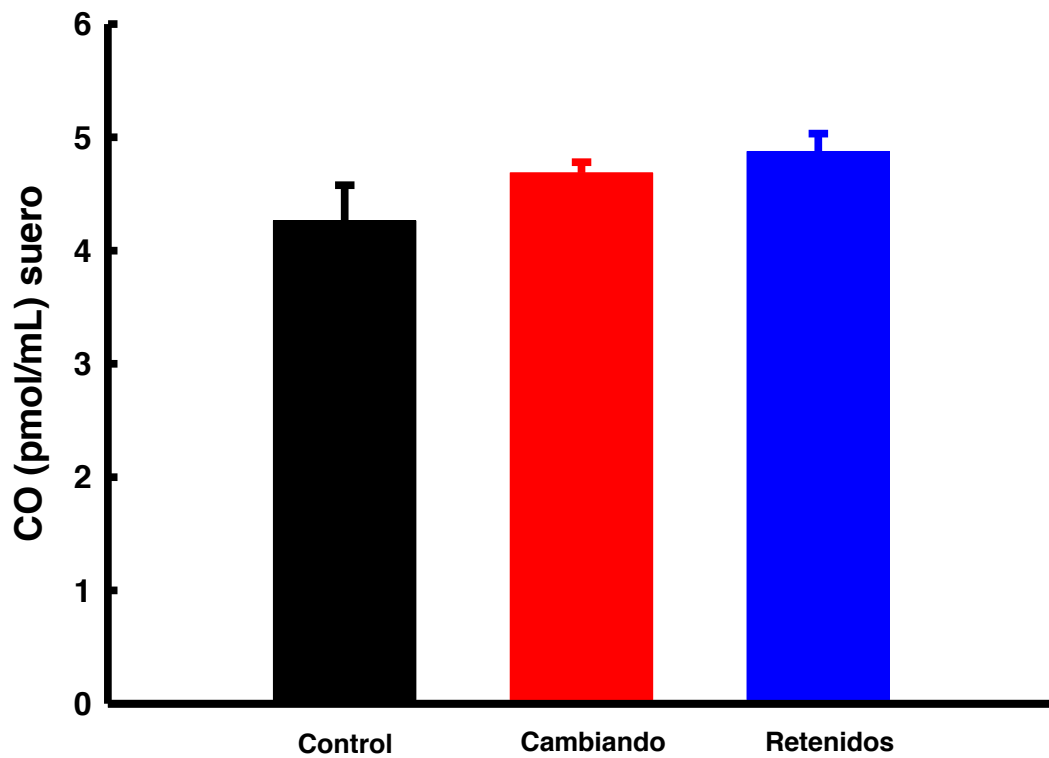


Fig. 25: Valores de CO en suero de los grupos de estudio.

5.1.3. TGF

Los valores del TGF en el suero de los diferentes grupos de perros no fueron significativamente diferentes, siendo los mismos ligeramente inferiores en el grupo de perros control que en los grupos con cambio de dentición y con dientes deciduos retenidos (Fig. 26).

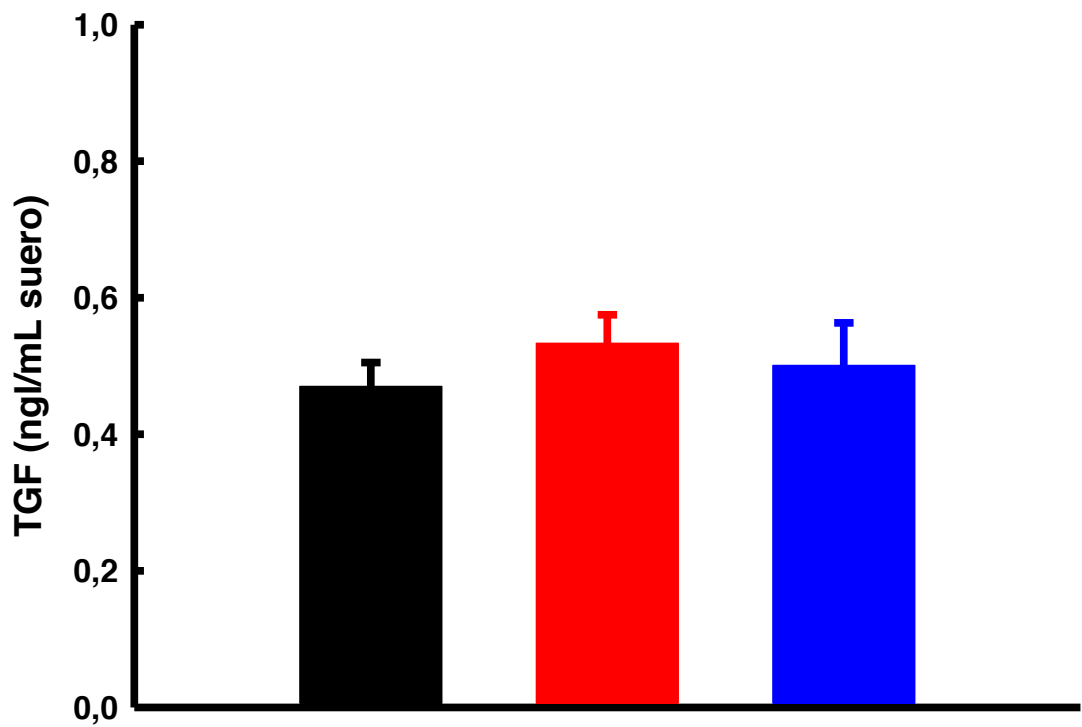


Fig. 26: Valores de TGF en suero de los grupos de estudio.

5.1.4. Interleuquina 1 (IL-1)

Los valores obtenidos en suero de Interleuquina 1 (IL-1) fueron significativamente superiores en el grupo de perros con dientes deciduos retenidos que en el grupo de perros control (Fig. 27).

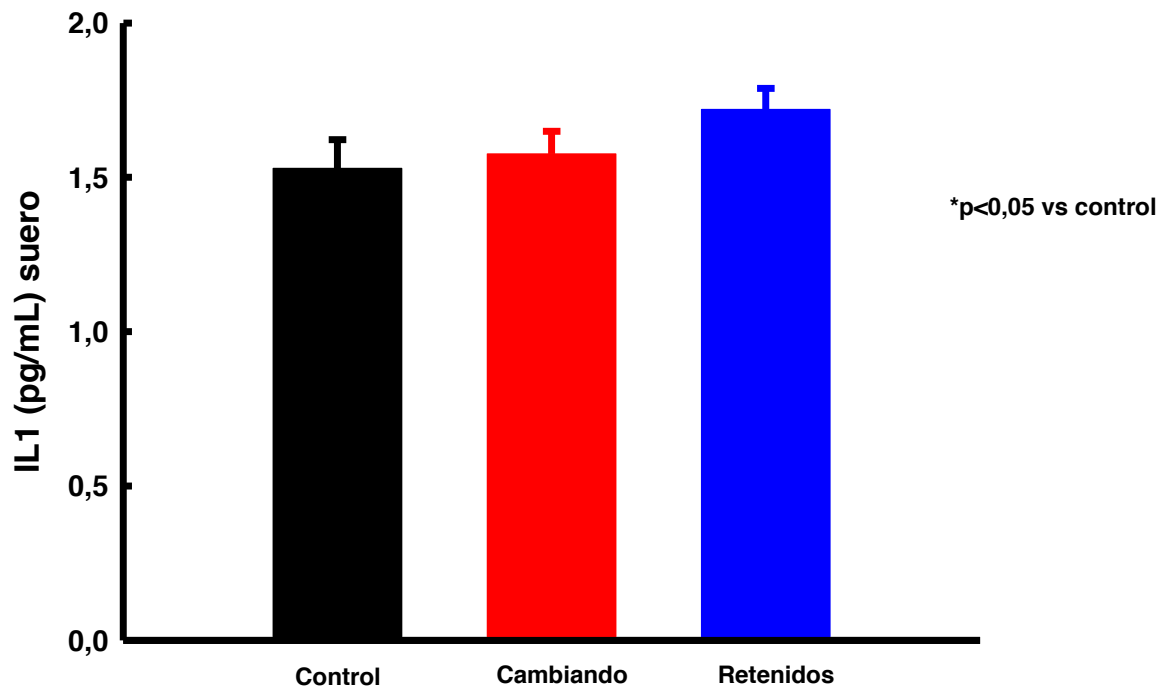


Fig. 27: Valores de IL-1 en suero de los grupos de estudio.

5.1.5. TNF

Los valores del factor de necrosis tumoral (TNF) obtenidos en el suero de los distintos grupos no fueron significativamente diferentes (**Fig. 28**).

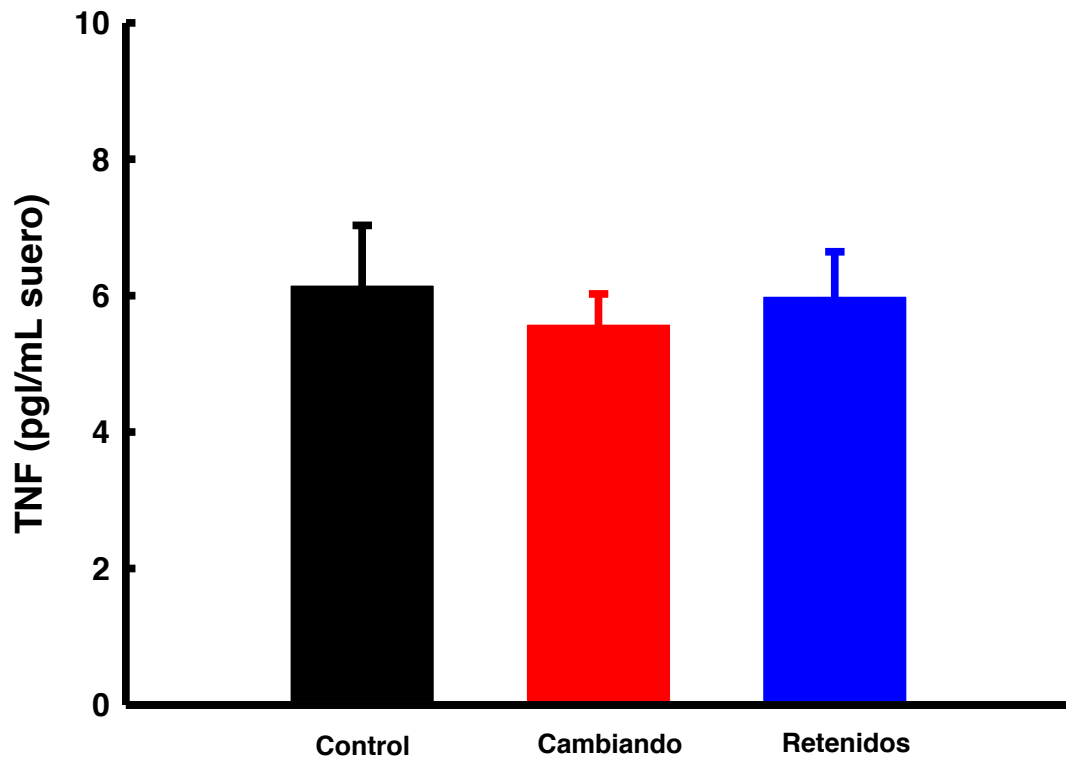


Fig. 28: Valores de TNF en suero de los grupos de estudio.

5.1.6. Interleuquina 6 (IL-6)

Los valores de IL-6 obtenidos en el grupo de perros con dientes deciduos retenidos fueron significativamente inferiores al resto de grupos (**Fig. 29**).

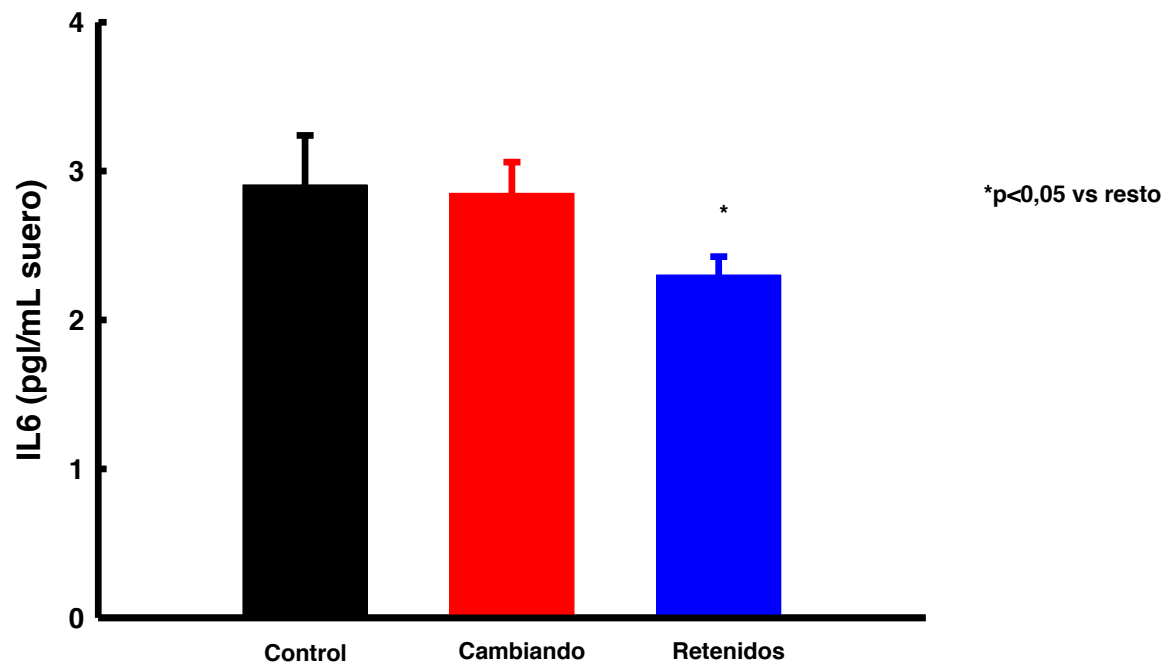


Fig. 29: Valores de IL-6 en suero de los grupos de estudio

5.1.7. Interleuquina 8 (IL-8)

Los valores de Interleuquina 8 (IL-8) obtenidos en los distintos grupos de perros no fueron significativamente diferentes, siendo ligeramente superiores en el grupo de perros con cambio de dentición (**Fig. 30**).

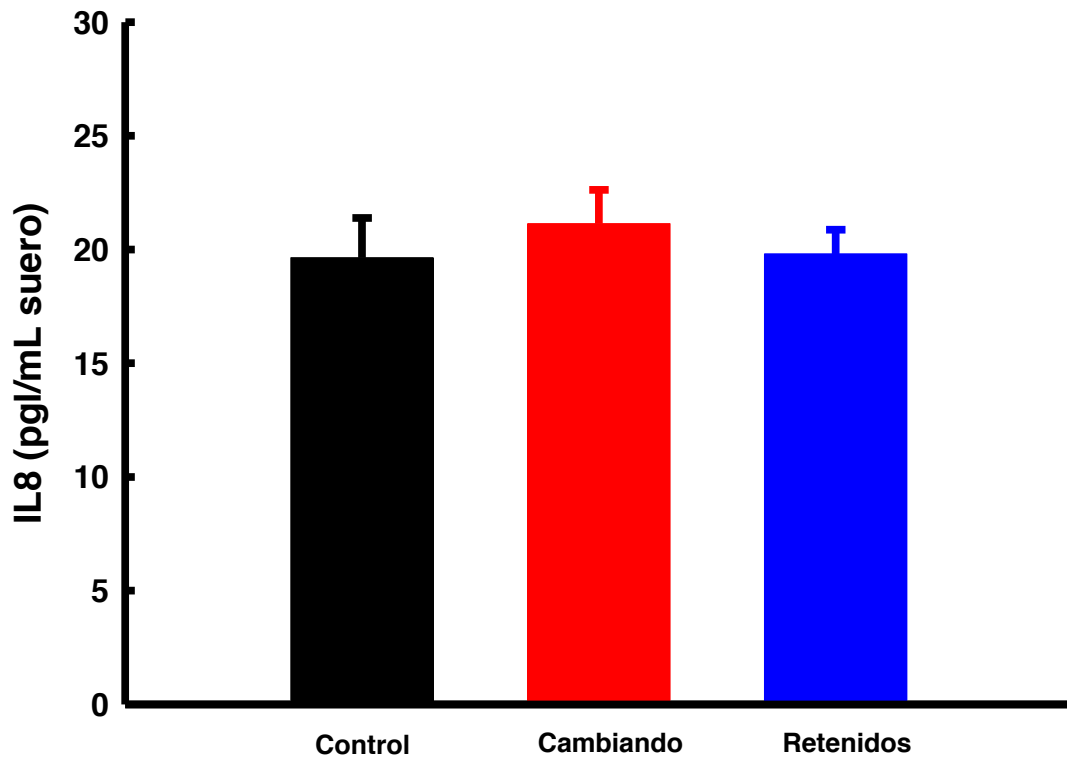


Fig. 30: Valores de IL-8 en suero de los grupos de estudio.

5.1.8. Interleuquina 10 (IL-10)

Los valores de Interleuquina 10 (IL-10) obtenidos en el suero de los distintos grupos de perros no fueron significativamente diferentes, siendo estos ligeramente superiores en el grupo de perros con cambio de dentición y retenidos que en el grupo control (Fig. 31).

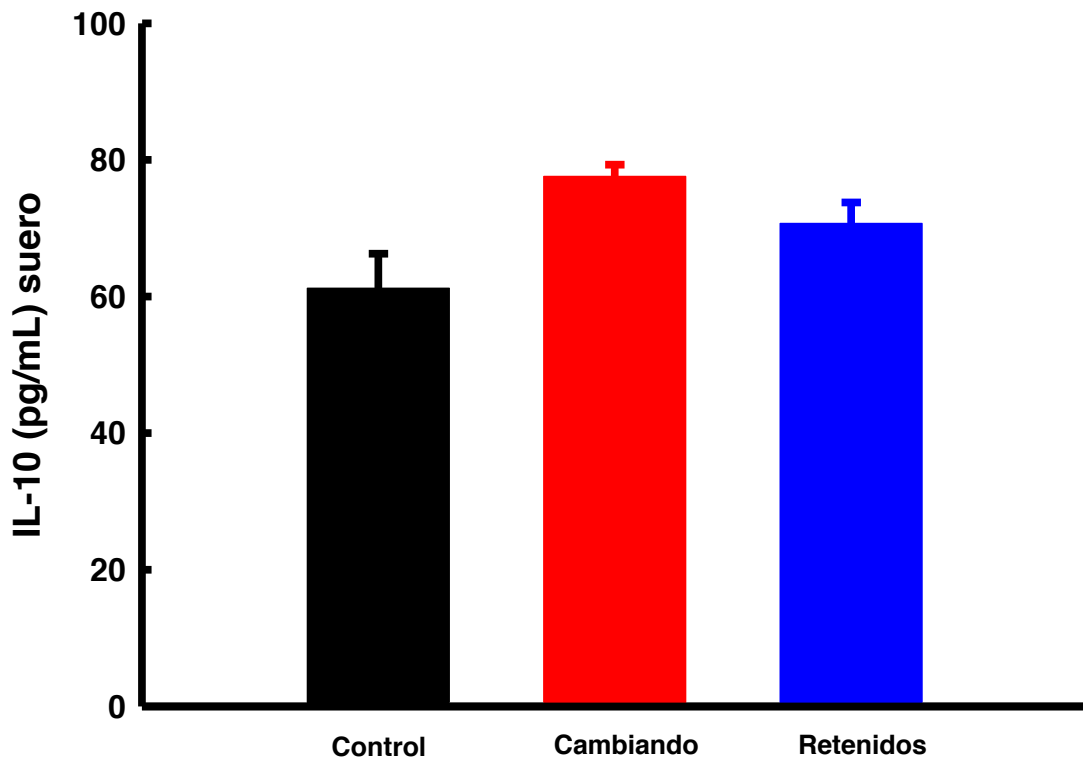


Fig. 31: Valores de IL-10 en suero de los grupos de estudio.

5.2. Saliva

5.2.1. Óxido Nítrico

Los valores de Oxido Nítrico obtenidos en la Saliva de los perros del grupo “Cambiando” con respecto al resto de grupos fueron muy significativamente superiores, a su vez los del grupo con dientes de leche retenidos fueron muy significativamente inferior al grupo control (Fig. 32).

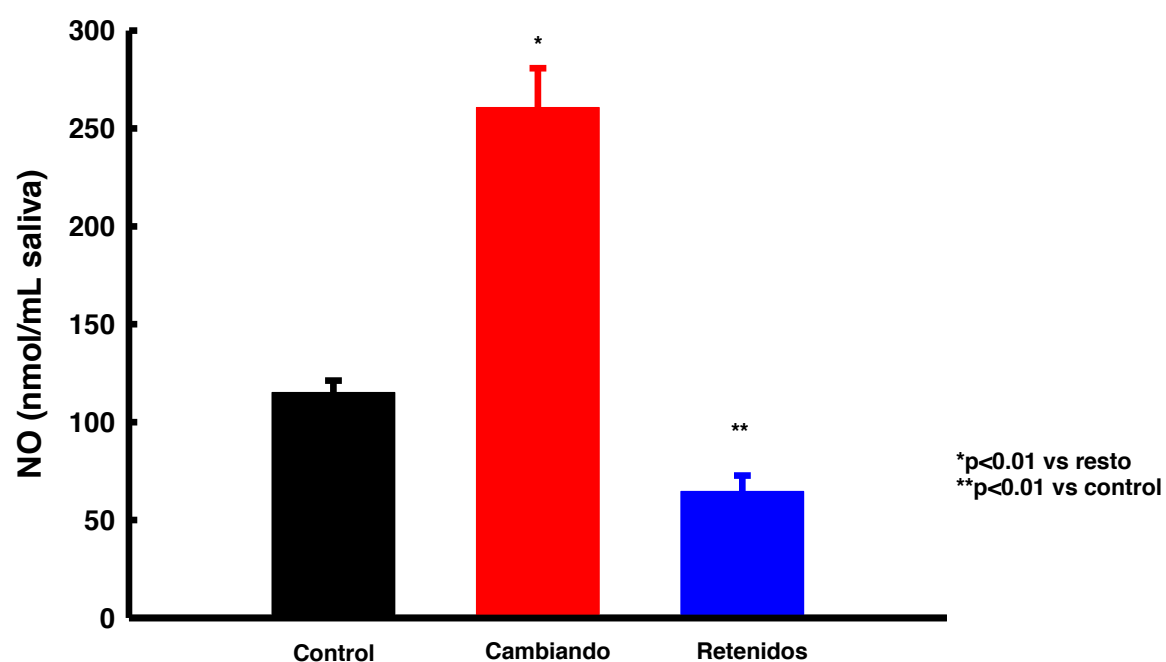


Fig. 32: Valores de NO en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.2. Monóxido de carbono

Los valores de CO obtenidos en el grupo control fueron menores que en el resto de grupos. Entre el grupo de perros con cambio de dentición y el de dientes retenidos no hubo diferencias en los niveles de CO (**Fig. 33**).

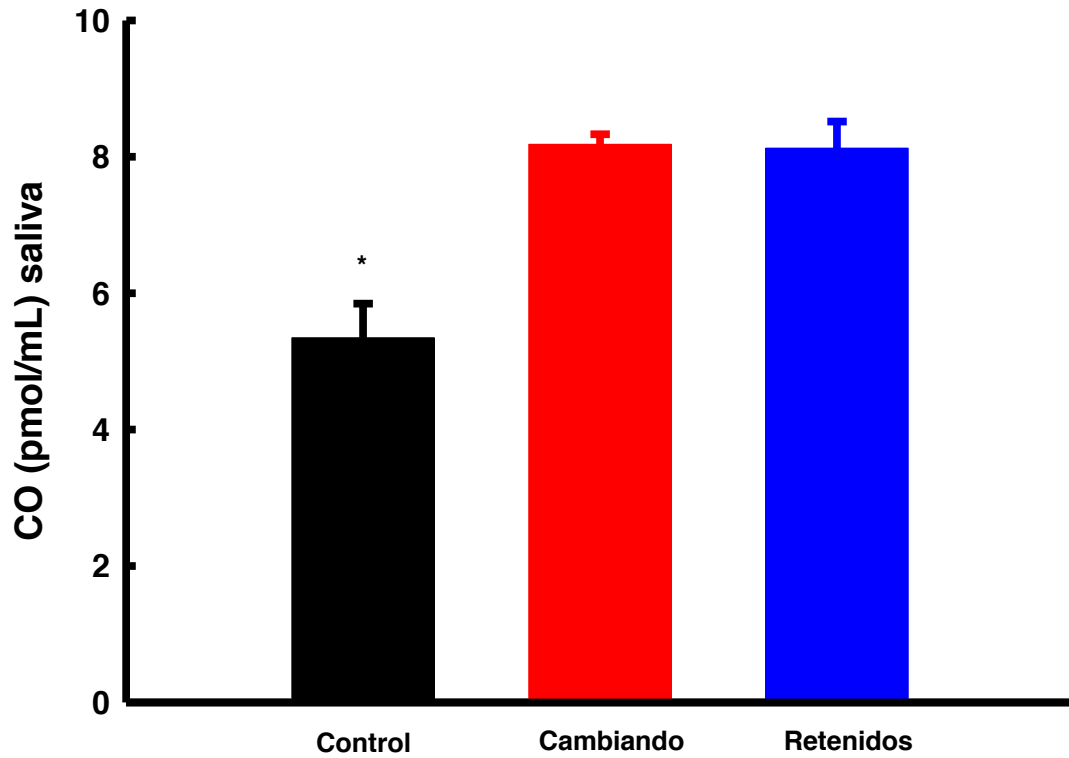


Fig. 33: Valores de CO en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.3. TGF

Los resultados de valores de TGF obtenidos en saliva fueron muy significativamente ($p < 0,01$) superiores en el grupo “Cambiando” respecto del resto de grupos. Y significativamente superiores ($p < 0,05$) en el grupo “Retenidos” respecto del grupo “Control” (Fig. 34).

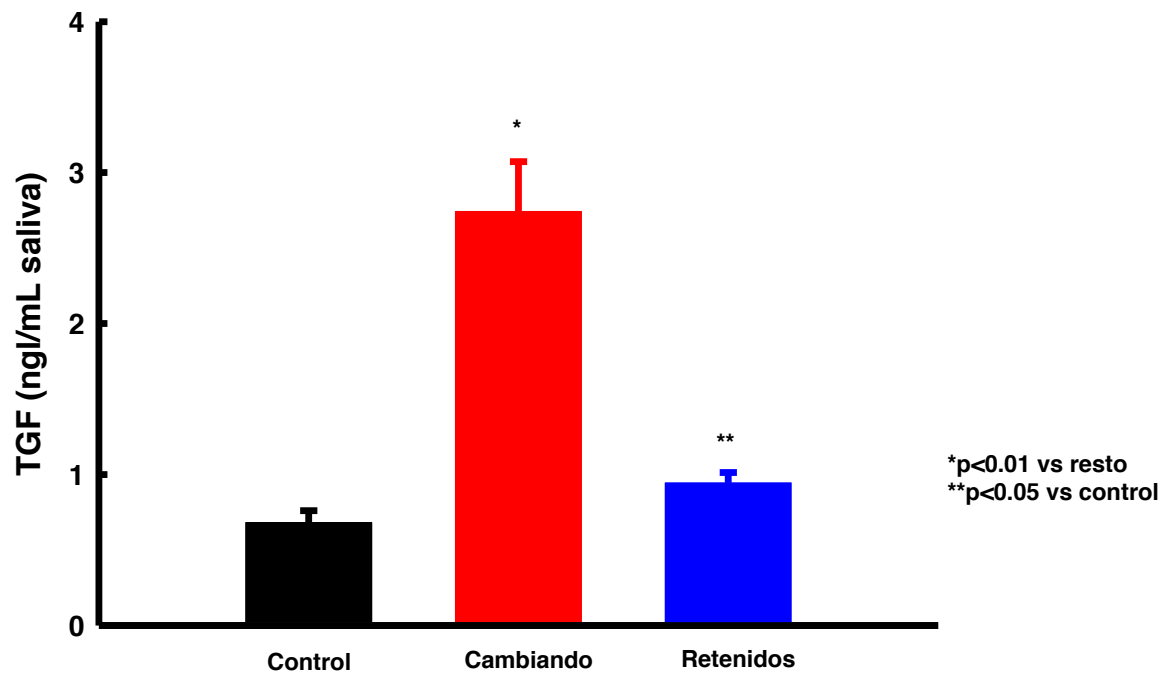


Fig. 34: Valores de TGF en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.4. Interleuquina 1 (IL-1)

Los valores de interleuquina 1 (IL-1) del grupo “Cambiando” respecto del resto de grupos fueron muy significativamente superiores. Por otra parte, los valores del grupo “Retenidos” fueron significativamente mayores que los del grupo “Control” (Fig. 35).

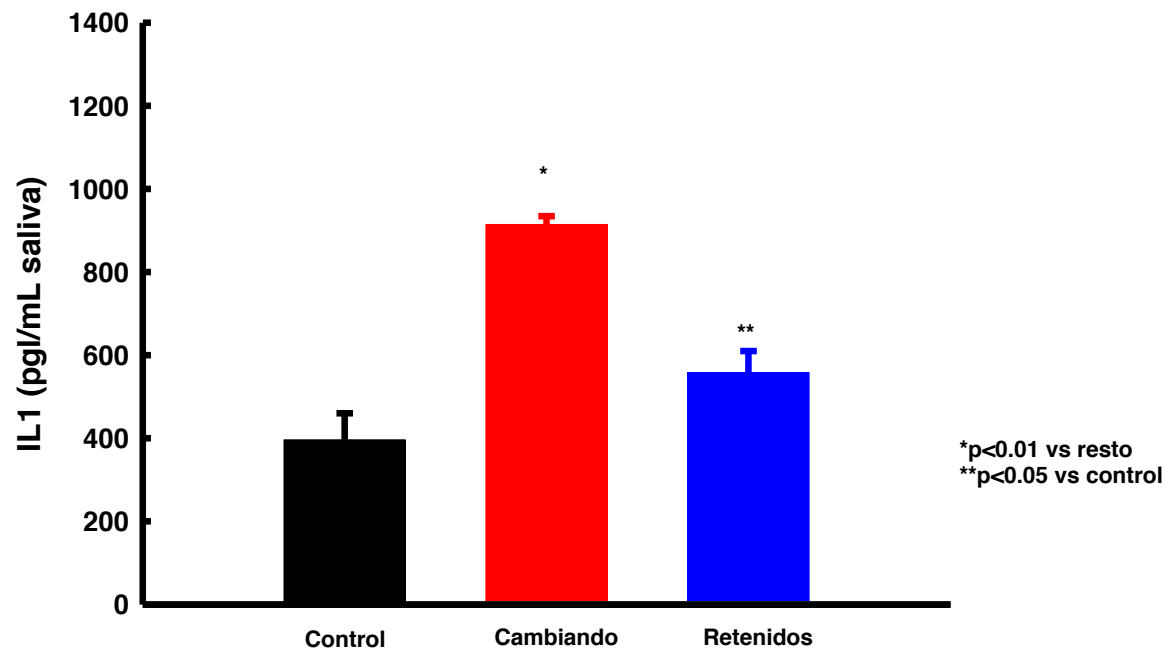


Fig. 35: Valores de IL-1 en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.5. TNF

Los valores del grupo “Cambiando” fueron significativamente mayores que en el resto de grupos (Fig. 36).

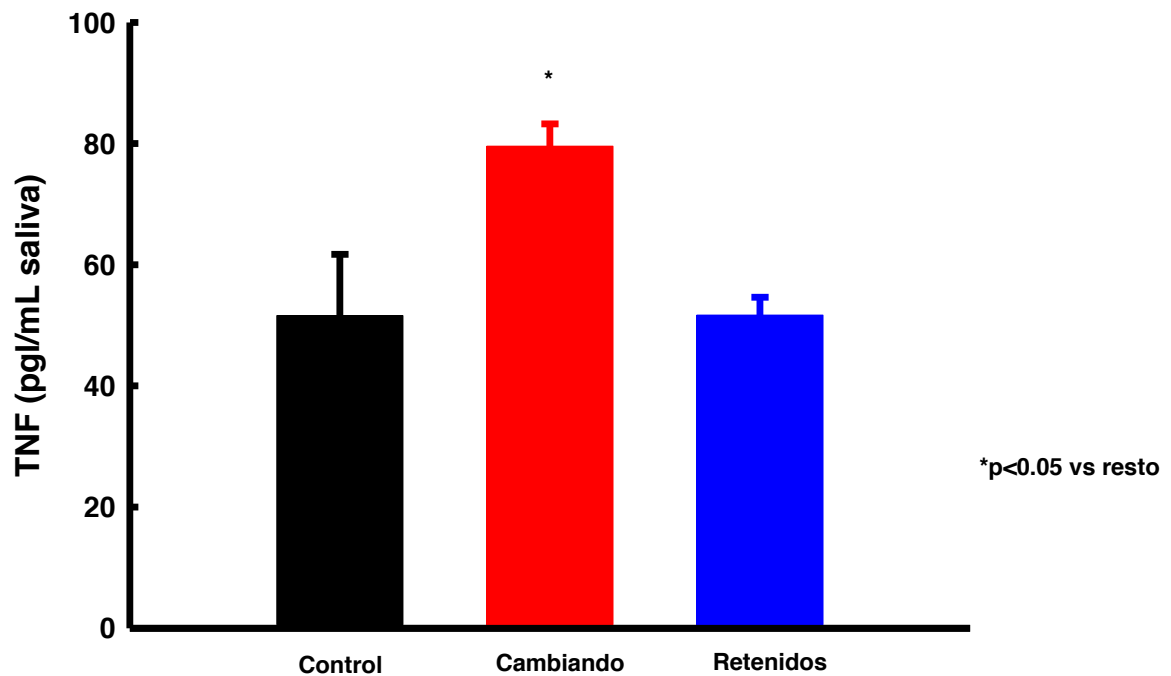


Fig. 36: Valores de TNF en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.6. Interleuquina-6 (IL-6)

Los valores de interleuquina 6 (IL-6) del grupo “Retenidos” fueron significativamente inferiores a los de los otros grupos (**Fig. 37**).

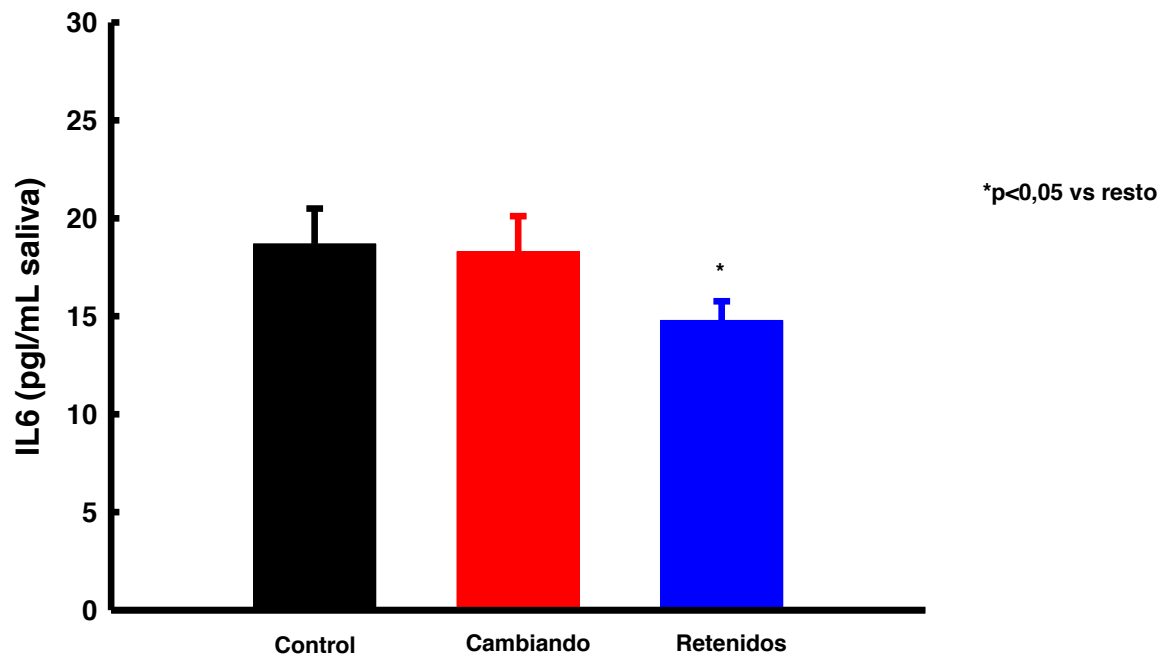


Fig. 37: Valores de IL-6 en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.7. Interleuquina 8 (IL-8)

Los valores de interleuquina-8 (IL-8) del grupo “Cambiando” son muy significativamente superiores a los de los otros grupos (**Fig. 38**).

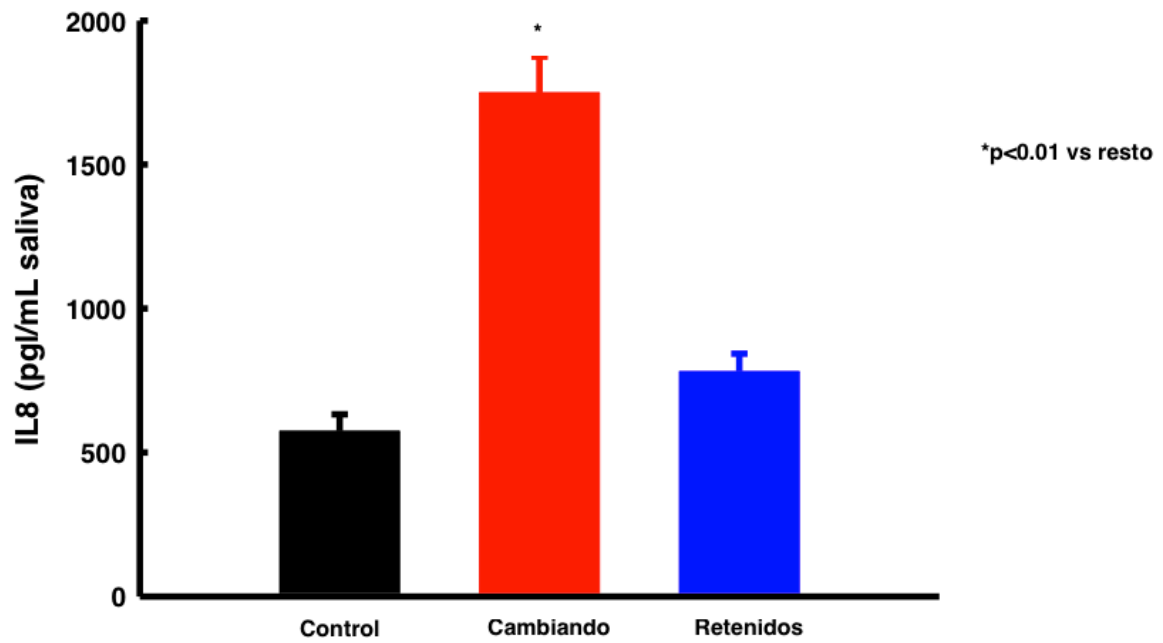


Fig. 38: Valores de IL-8 en la saliva de los grupos de estudio.

5.2.8. Interleuquina 10 (IL-10)

La IL-10 en el grupo cambiando resultó ser menor que en el resto de grupos, aunque no significativamente (**Fig. 39**).

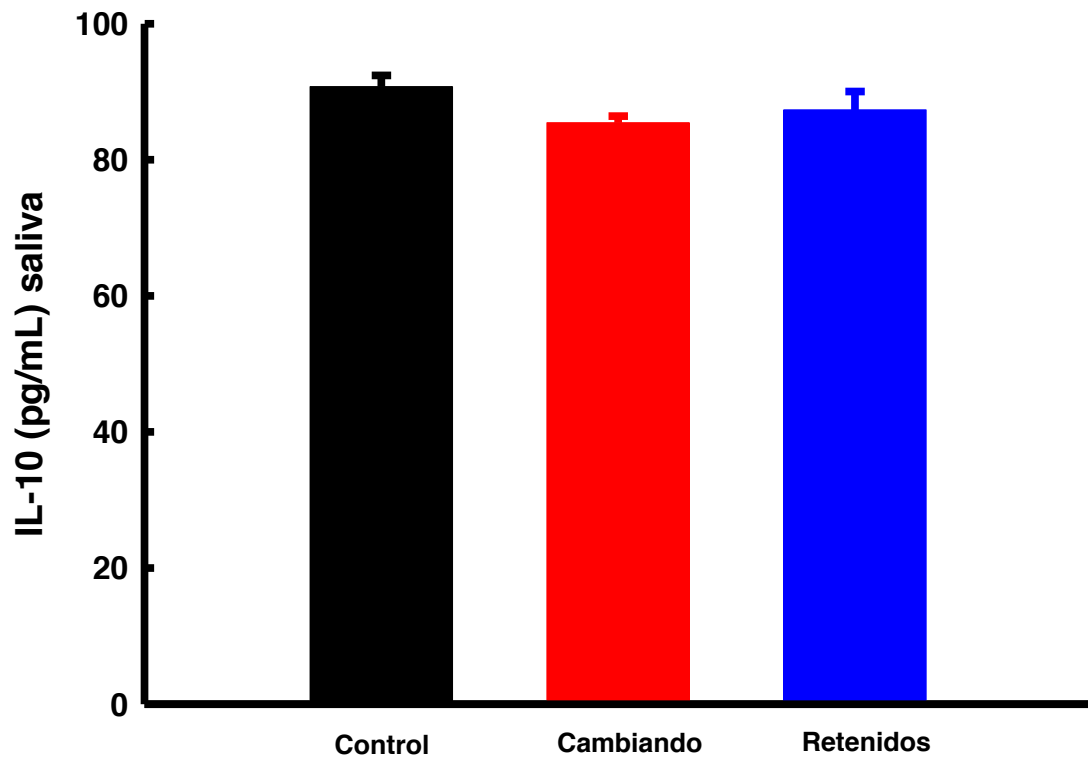


Fig. 39: Valores de IL-10 en la saliva de los grupos de estudio.

5.3. Encía

5.3.1. eNOS

La expresión de eNOS en la encía fue significativamente superior en el grupo “Cambiando” con respecto a los de los grupos “Control” y “Retenidos” (Fig. 40).

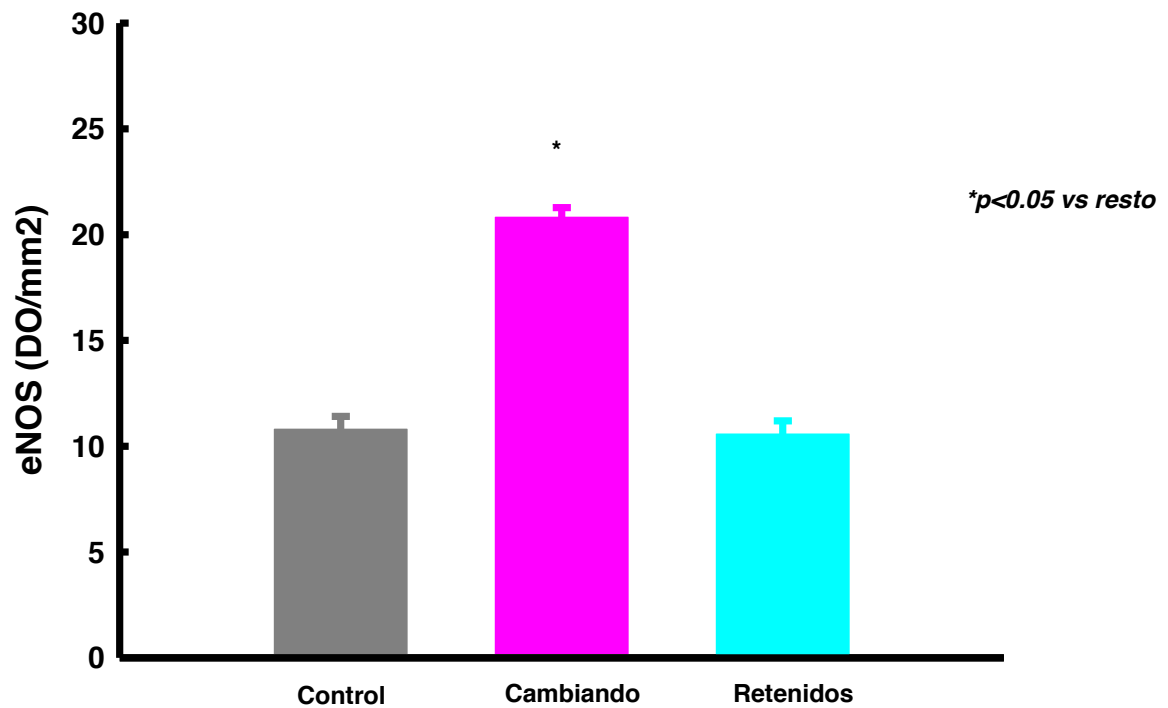


Fig. 40: Expresión de eNOS en la encía de los grupos de estudio.

5.3.2. iNOS

La expresión de de iNOS en la encía del grupo “Cambiando” resultó significativamente mayor que la de los otros grupos (**Fig. 41**).

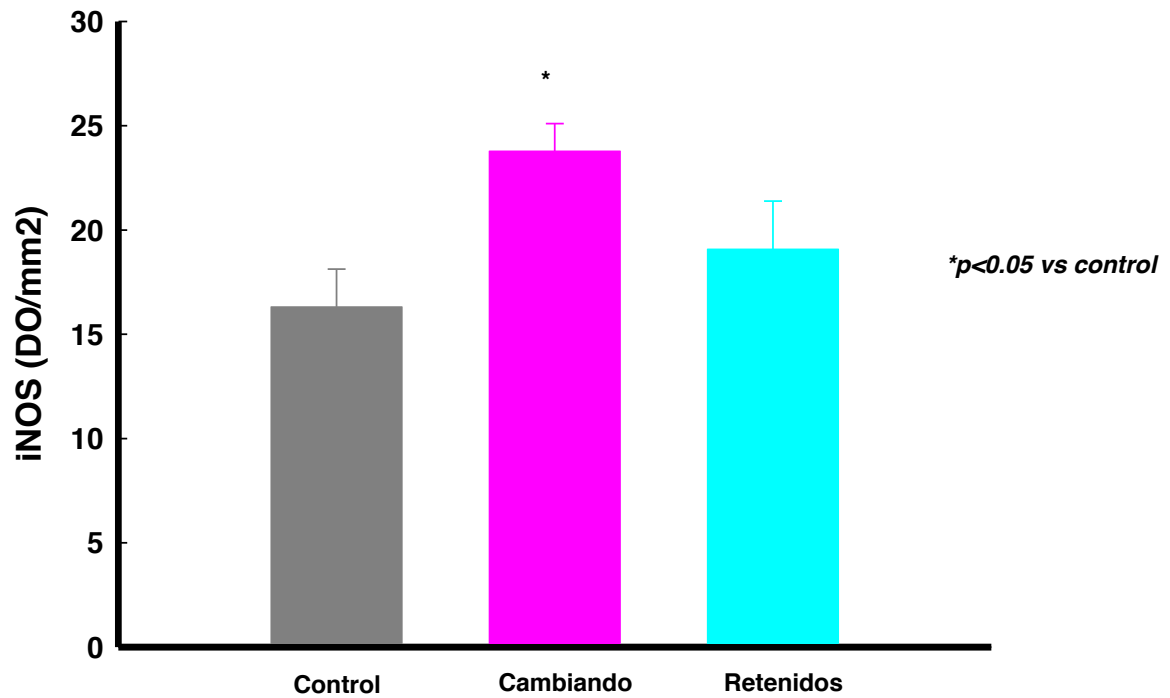


Fig. 41: Expresión de iNOS en la encía de perros de los grupos de estudio.

5.3.3. HO-1

La expresión de HO-1 en la encía del grupo “Control” resultó significativamente inferior a la de los otros grupos (**Fig. 42**).

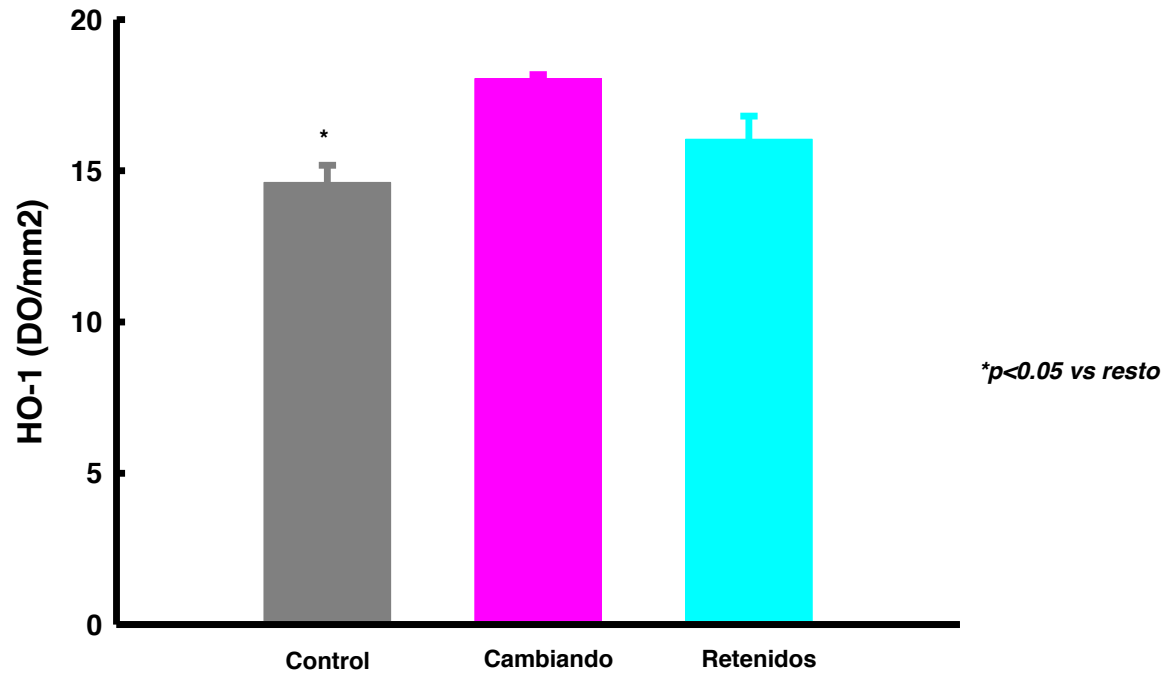


Fig. 42: Expresión de HO-1 en la encía de los grupos de estudio.

5.3.4. HO-2

Las variaciones de la expresión de HO-2 entre los diferentes grupos no fueron significativas (**Fig. 43**).

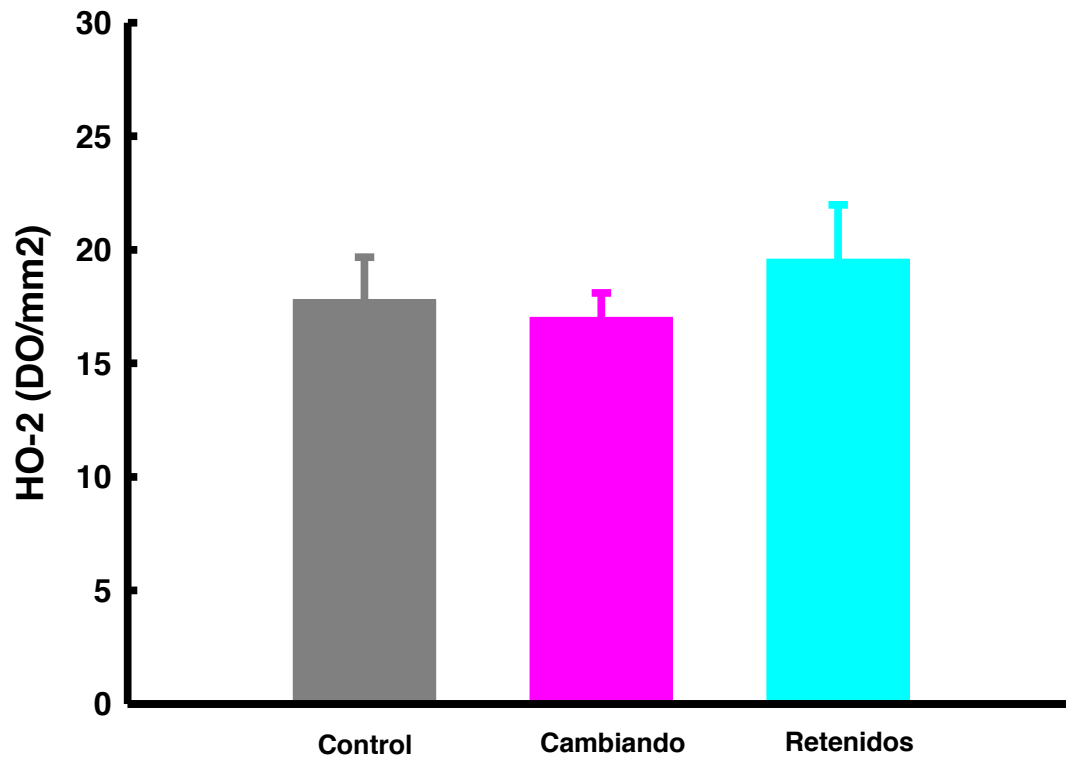


Fig. 43: Expresión de HO-2 en la encía de los grupos de estudio.

5.3.5. Interleuquina-1 (IL-1)

Con la interleuquina 1 (IL-1) en encía, sí se encontraron diferencias de relevancia, siendo la expresión de IL-1 muy significativamente mayor en el grupo “Cambiando” que en el resto de grupos y también muy significativamente mayor en el de “Retenidos” que en el grupo “Control”.

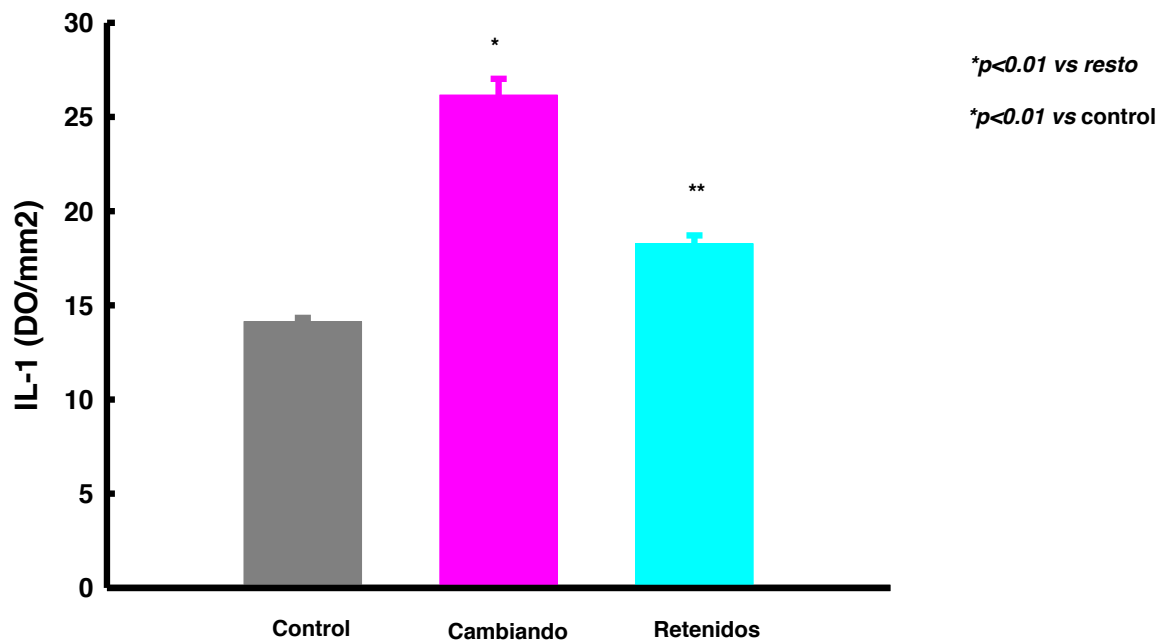


Fig. 44: Expresión de IL-1 en la encía de los grupos de estudio.

5.3.6. TNF

La expresión de TNF resultó muy significativamente superior en el grupo “Cambiando” que en el resto de grupos (**Fig. 45**).

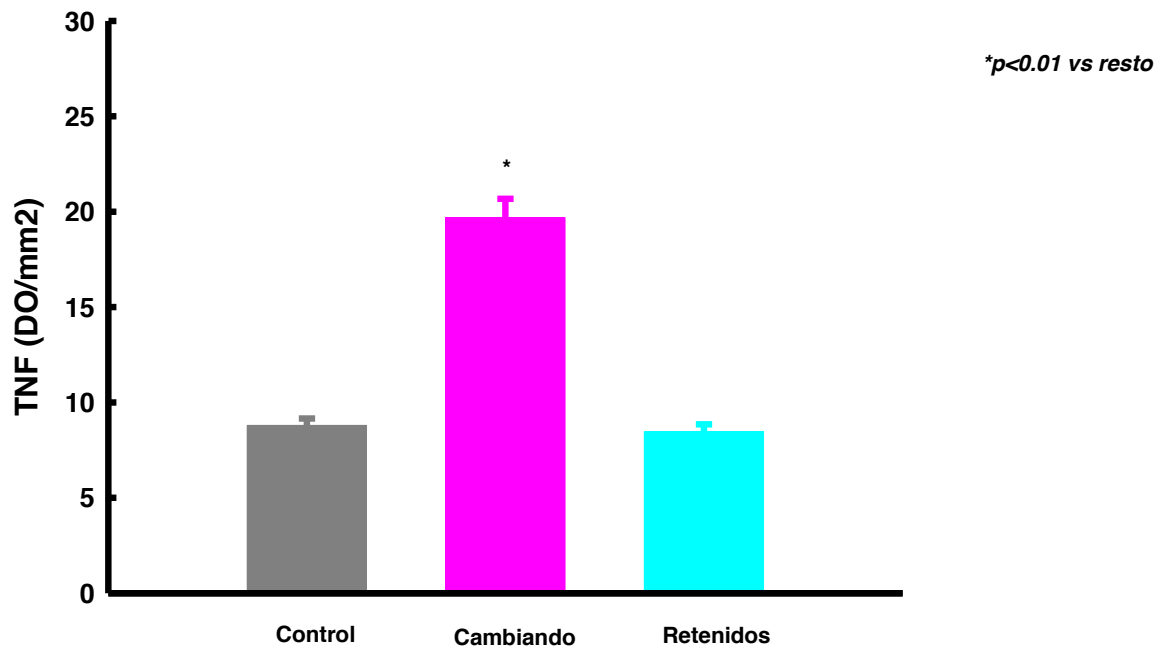


Fig. 45: Expresión de TNF en la encía de los grupos de estudio.

5.3.7. Interleuquina 6 (IL-6)

La expresión de Interleuquina 6 (IL-6) resultó ser mayor en el grupo “Cambiando” que en el resto de grupos, aunque no significativamente (**Fig. 46**).

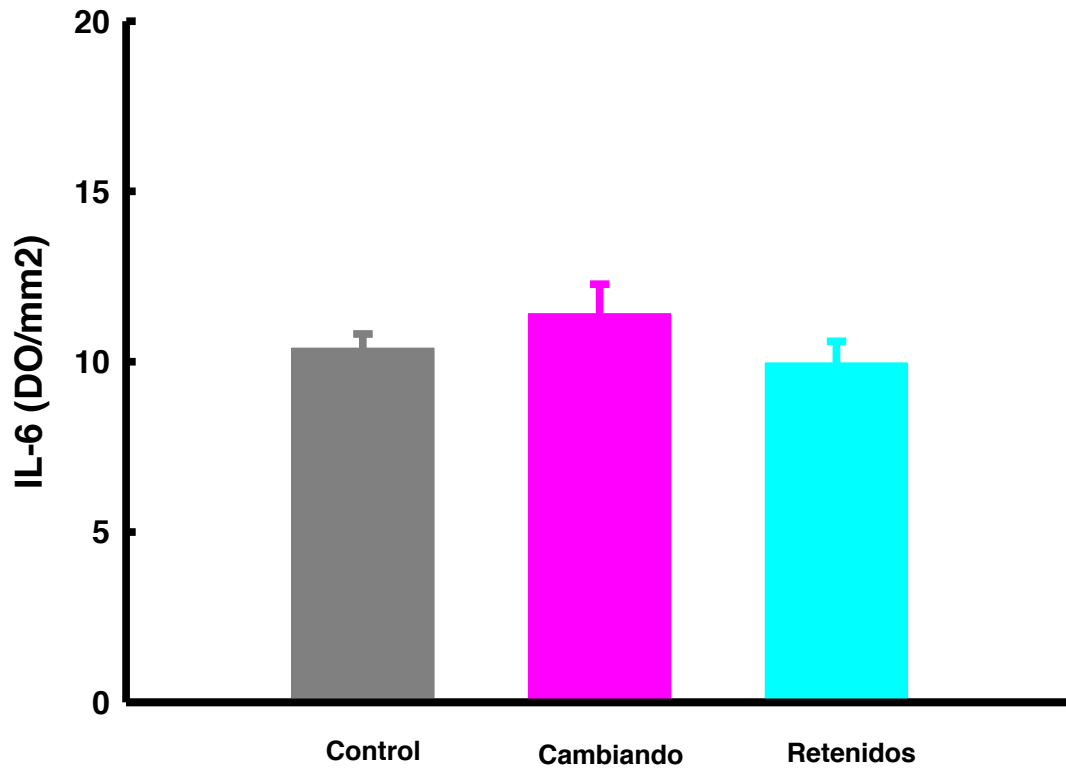


Fig. 46: Expresión de IL-6 en la encía de los grupos de estudio.

6. Discusión

La erupción dental es el movimiento de un diente desde su sitio de desarrollo a su posición funcional en la boca a través del hueso y los tejidos blandos que lo recubren, es un evento local, pero fascinantemente programado. Durante el proceso de erupción hay reabsorción en el lado coronal y formación de hueso en el lado apical (basal) del diente (Marks y Schoroeder, 1996; Wise y King, 2008).

Las teorías clásicas que suponían que las fuerzas mecánicas eran la llave decisiva en el proceso de erupción, se han ido desvaneciendo con los estudios llevados a cabo en los últimos años. Cahill y Marks, en la década de los 80, realizaron varios trabajos en los que demostraron que un diente sin folículo dental no podía erupcionar, que un diente sin raíz seguía erupcionando y que un folículo dental sin diente (con una bola de silicona o metálica) seguía erupcionando. También se ha descrito que existen unos mecanismos de reabsorción radicular de los dientes deciduos, y que dicha reabsorción se produce normalmente a pesar de que no exista el germen dentario del diente que le sucede (Harokopakis–Hajishengallis, 2007). Las nuevas teorías y estudios sobre los mecanismos moleculares han ido aclarando como se produce el complejo proceso, aún no del todo elucidado.

En el perro, la retención de dientes de leche es relativamente frecuente, en especial en razas pequeñas. Esta retención de dientes deciduos puede producir una serie de problemas que ya hemos visto, como son: anomalías en la posición dentaria, gingivitis, maloclusión, etc. El estudio de los mecanismos íntimos que están implicados en el cambio de la dentición y en la retención de dientes deciduos en la especie canina, es por lo tanto de gran importancia. Su conocimiento podría abrir una nueva vía para la prevención y el tratamiento de estas alteraciones

La primera molécula mediadora en el desarrollo dental que se identificó, fué el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Cohen, 1962). Thesleff y Sharper, en 1997, describieron los mediadores en la fase embrionaria de campana, entre la lámina dental y las células mesenquimales, para su diferenciación a odontoblastos. El primer mediador identificado a ese nivel celular fue la BMP4 (Vainio, 1993).

Posteriormente se han identificado otras moléculas, como la hormona del crecimiento, las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), los factores de crecimiento fibroblásticos (FGFs), las proteínas internas wingless (Wnts), las proteínas Hedgehog (Hhs), y las moléculas de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) (Wise et al, 2000; Ohazama and Sharpe, 2009).

Para que se produzca la reabsorción en la zona coronal del diente y se cree una vía eruptiva en la cripta ósea, debe producirse la diferenciación celular de las células mesenquimales a osteoclastos. En este proceso va a mediar el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL), el cual se expresa en los osteoblastos del tejido periodontal, durante la erupción dental y el movimiento dental. De este modo, la erupción dental y el movimiento ortodóncico requieren una compresión y retracción del periodonto que estimula la proliferación y diferenciación de las poblaciones de las células madre, dando lugar a una resorción ósea y regeneración en ese medio ambiente local (Shiotani et al, 2001). Por lo tanto, para la activación del osteoclasto, es necesario “RANKL” (localizado en los osteoblastos y las células del estroma de la médula ósea) acoplado al receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK) (localizado en los preosteoclastos). Este proceso a su vez, está regulado por la osteoprotegerina (OPG) que al unirse con RANKL neutraliza el proceso de actividad osteoclástica (Heino et al, 2004).

Se ha comparado el movimiento ortodóncico con el movimiento dental de la erupción. Cuando se aplica una fuerza al diente, se produce una inflamación en el ligamento periodontal. Durante el proceso inflamatorio, se liberan mediadores químicos, como las citoquinas y otras sustancias. Las citoquinas proinflamatorias promueven la reabsorción en las zonas de compresión durante el movimiento dental (Wise y King, 2008).

En humanos, se han realizado estudios en niños que han puesto de manifiesto la presencia de niveles altos de las citoquinas (TNF y otras interleuquinas) estadísticamente significativos en el líquido crevicular, procedentes del ligamento periodontal de los dientes en erupción. Los niveles de las citoquinas del fluido gingival, se pudieron correlacionar con algunos de los síntomas clínicos y sistémicos de la erupción dentaria, como son fiebre, alteraciones del sueño y trastornos gastrointestinales. Aunque en este estudio no se llevó a cabo un análisis de las citoquinas en suero, se ha sugerido la posible relación entre los incrementos de las citoquinas proinflamatorias y los síntomas clínicos (Shapira et al, 2003).

En la especie Equina se ha puesto de manifiesto la señalización de los mediadores inflamatorios en la erupción dental (León, 2011).

En la especie canina se han llevado a cabo estudios in vivo que demuestran la existencia de una relación de los niveles de óxido nítrico, TNF y otras citoquinas

inflamatorias y antiinflamatorias, con los procesos inflamatorios de tipo respiratorio asociados al síndrome de obstrucción de la vía aérea en perros braquicéfalos (Rancan et al, 2013).

Sin embargo, en la especie canina no se había realizado antes ningún estudio *in vivo* que relacionase los niveles salivales del óxido nítrico y otros mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios, con la erupción dental. Basándonos en esto, se tomaron muestras de saliva, de suero sanguíneo y de encía a perros, divididos en 3 grupos según la cronología y la dentición: grupo I, perros con edades de más de 7 meses, y con una dentadura completa. Grupo II, perros con edades comprendidas entre 3 y 6 meses, que se encontraban cambiando la dentición decidua por la permanente. Y grupo III, perros con más de 7 meses de edad que presentaban dientes de leche retenidos. Todos los perros de los 3 grupos, fueron únicamente de tres razas: Labrador retriever, cocker spaniel inglés y Yorkshire terrier.

Las citoquinas proinflamatorias analizadas en las muestras tomadas a los perros de los diferentes grupos del estudio fueron: el Factor de necrosis Tumoral (TNF), la Interleuquina 1, Interleuquina 6, Interleuquina 8. Estas interleuquinas Proinflamatorias, promueven la reabsorción de tejidos en las zonas de compresión (Yamaguchi y Kasai, 2005). Se ha sugerido que el TNF incrementa la IL-1 y modula la producción de óxido nítrico secundaria a la de Prostaglandina 2 (PG2) (Xiao Feng, 2012).

También se analizó el factor de crecimiento transformante (**TGF**), que se comporta como una citoquina, aunque no lo es, produce la apoptosis del epitelio oral durante la erupción (Moriguchi, 2010), actúa sobre todo en la formación de los cementoblastos y en el desarrollo radicular, también contribuye a la formación de los restos epiteliales de Malassez, que son un conjunto de células epiteliales que también van a intervenir en la señalización (Liu et al, 2001).

Se analizó también el **óxido nítrico**. El **NO** es un mediador molecular que ha sido ampliamente implicado en el mecanismo de acción de las citoquinas. Su comportamiento parece ser bifásico, de tal manera que actúa de manera diferente según sus concentraciones. Se ha descrito que altas concentraciones de NO inhiben la reabsorción por osteoclastos maduros y la producción de osteoclastos a partir de células precursoras. Por el contrario, bajas concentraciones de NO estimulan el crecimiento de osteoblastos y la producción de citoquinas (Collin-Osdoby et al, 1995). El NO se libera en cuestión de segundos en respuesta a la tensión mecánica de los

osteoblastos y osteocitos, en su corta vida como radical libre, inhibe la reabsorción y promueve la formación de hueso (Bakker et al, 2001).

la **IL-10**, al contrario que las otras Interleuquinas analizadas, es una citoquina Antiinflamatoria, y lo que hace es frenar la reabsorción ósea mediante el incremento de la expresión de la OPG e inhibiendo la de RANKL y CSF-1.(Liu et al, 2006; Quian, 2007).

Se obtuvieron niveles significativamente más elevados en saliva de NO en los perros durante el cambio de dentición que en el resto de grupos. Y a su vez significativamente menor en los perros con dientes de leche retenidos con respecto al grupo control de perros con dentadura definitiva normal.

El TGF, TNF y resto de citoquinas en saliva del grupo “cambiando la dentición” fue significativamente más elevado que en el resto de grupos.

Por el contrario, los valores de la IL10 fueron menores en el grupo de perros que se encontraban en el periodo de cambio de dentición que en el resto de grupos, aunque no significativamente. Este resultado refuerza la hipótesis de la modulación de las citoquinas en la erupción dental, ya que la IL10 frena la reabsorción ósea al contrario que las citoquinas inflamatorias.

En suero, los valores del óxido nítrico fueron significativamente más bajos en los perros con dientes retenidos que en el grupo control. En el resto de citoquinas la diferencia no fue significativa en suero para la mayoría de ellas.

La expresión en encía de las enzimas eNOS para el grupo “cambiando” de dentición, fue significativamente mayor que en el resto de grupos. También la del iNOS fue significativamente mayor en los perros durante el cambio de dentición que en el grupo “control”.

Las expresiones de HO-1, IL-1, TNF, e IL-6, también se mostraron más elevadas en encía durante el cambio de dentición.

7. Conclusiones

- Los resultados de este estudio, demuestran que la erupción dental indujo un incremento de la expresión de las citoquinas proinflamatorias TNF, IL-1, IL-6 e IL-8 y del óxido nítrico.
- En los perros, durante la erupción dental, se observó un aumento muy significativo de la expresión de iNOS, paralelo a la expresión de citoquinas proinflamatorias.
- La erupción dental también indujo un aumento de los niveles de NO en saliva, probablemente debido al aumento de la expresión de iNOS en la encía del grupo de perros cambiando la dentición. Este aumento de la expresión de iNOS fue paralelo a la expresión de citoquinas proinflamatorias.
- Los niveles de los mediadores proinflamatorios en saliva sufrieron cambios paralelos a los observados en la expresión de la proteína en encía. Esto unido al hecho de que no se observaron diferencias en los niveles circulantes de estos mediadores, sugiere que la expresión local de moléculas inflamatorias y antiinflamatorias podría jugar un papel importante en la erupción dental en los perros.

Los resultados obtenidos sugieren una línea de investigación para futuros trabajos, cuya finalidad fuese tratar de establecer la posibilidad de llevar a cabo tratamientos de patologías de la erupción dental, como la retención de dientes deciduos, mediante la modificación de los niveles del NO y otros mediadores inflamatorios en el folículo dental y los tejidos periodontales.

8. Bibliografía

- Aguirre, J., Buttery, L., O'Shaughnessy, M., Afzal, F., Fernandez de Marticorena, I., & Hukkanen, M. et al. (2001). Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene-Deficient Mice Demonstrate Marked Retardation in Postnatal Bone Formation, Reduced Bone Volume, and Defects in Osteoblast Maturation and Activity. *The American Journal of Pathology*, 158(1), 247-257. doi:10.1016/s0002-9440(10)63963-6
- Ahmad, S., Bister, D., & Cobourne, M. (2006). The clinical features and aetiological basis of primary eruption failure. *The European Journal Of Orthodontics*, 28(6), 535-540. doi:10.1093/ejo/cjl033
- Ahmadi-Motamayel, F., Goodarzi, M., Hendi, S., Kasraei, S., & Moghimbeigi, A. (2013). Total antioxidant capacity of saliva and dental caries. *Med Oral*, e553-e556. doi:10.4317/medoral.18762
- Alhadlaq, A. M. (2015). Biomarkers of Orthodontic Tooth Movement in Gingival Crevicular Fluid: A Systematic Review. *J Contemp Dent Pract*, 16(7), 578-587.
- Bäck, M., Hlawaty, H., Labat, C., Michel, J., & Brink, C. (2007). The Oral Cavity and Age: A Site of Chronic Inflammation?. *Plos ONE*, 2(12), e1351. doi:10.1371/journal.pone.0001351
- Bakker, A., Soejima, K., Klein-Nulend, J., & Burger, E. (2001). The production of nitric oxide and prostaglandin E2 by primary bone cells is shear stress dependent. *Journal of Biomechanics*, 34(5), 671-677. doi:10.1016/s0021-9290(00)00231-1
- Balemans, W., & Van Hul, W. (2002). Extracellular Regulation of BMP Signaling in Vertebrates: A Cocktail of Modulators. *Developmental Biology*, 250(2), 231-250. doi:10.1006/dbio.2002.0779
- Barbería Leache, E., Boj Quesada, J. R., Catalá Pizarro, M., García Ballesta, C., Mendoza Mendoza, A. (2001). *Odontopediatría (2ª ed.)*. Madrid: Elsevier-Masson.
- Beckman, B. (2012). *Dental enamel defects in dogs*. *dvm360.com*. Recuperado a partir de <http://veterinarynews.dvm360.com/dental-enamel-defects-dogs>
- Bellows, J. (2011). *Tooth eruption and exfoliation in dogs and cats*. *dvm360.com*. Recuperado a partir de

<http://veterinarynews.dvm360.com/tooth-eruption-and-exfoliation-dogs-and-cats?rel=canonical>

- Bernimoulin, J. (2003). Recent concepts in plaque formation. *Journal Of Clinical Periodontology*, 30(s5), 7-9. doi:10.1034/j.1600-051x.30.s5.3.x
- Bruna del Cojo, M. (2011). *Estudio Cronológico y Erupitivo de la Dentición Permanente en una Muestra de la Comunidad de Madrid* (Doctorado). Universidad Complutense de Madrid.
- Butković, V., Šehič, M., Stanin, D., Šimpraga, M., Capak, D., & Kos, J. (2001). Dental Diseases in Dogs: A Retrospective Study of Radiological Data. *Acta Veterinaria Brno*, 70(2), 203-208. doi:10.2754/avb200170020203
- Cahill, D., & Marks, S. (1980). Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Pathol Med*, 9(4), 189-200. doi:10.1111/j.1600-0714.1980.tb00377.x
- Cohen, S. (1962). Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem.*, 237, 1555-1562.
- Cohen-Brown, G., & Ship, J. (2004). Diagnosis and treatment of salivary gland disorders. *Quintessence Int*, 35, 108-23.
- Cuadros, C., Rubert, A., Guinot, F., & Bellet, L. (2008). Etiología del retraso de la erupción dental. Revisión bibliográfica. *Dentum*, 8(4), 155-166.
- Devasagayam, T., Tilak, J., Bloor, K., Sane, K., Ghaskadbi, S., & Lele, R. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*, 52, 794-804.
- Dodds, M., Johnson, D., & Yeh, C. (2005). Health benefits of saliva: a review. *Journal Of Dentistry*, 33(3), 223-233. doi:10.1016/j.jdent.2004.10.009
- Dole, R., & Spurgeon, T. (1998). Frequency of supernumerary teeth in a dolichocephalic canine breed, the greyhound. *Am J Vet Res.*, 59(1), 16-17.
- Dominici, M., Pritchard, C., Garlits, J., Hofmann, T., Persons, D., & Horwitz, E. (2004). Hematopoietic cells and osteoblasts are derived from a common marrow progenitor after bone marrow transplantation. *Proceedings of The*

National Academy Of Sciences, 101(32), 11761-11766.
doi:10.1073/pnas.0404626101

- Emmons, MD, CDR, MC, USNR, W. (1997). Accuracy of Oral Specimen Testing for Human Immunodeficiency Virus. *The American Journal of Medicine*, 102(4), 15-20. doi:10.1016/s0002-9343(97)00033-8
- Evans, D., & Ralston, S. (1996). Nitric oxide and bone. *J Bone Miner Res*, 11(3), 300-305. doi:10.1002/jbmr.5650110303
- Floyd, M. (1991). The modified Triadan system: nomenclature for veterinary dentistry. *J Vet Dent.*, 8(4), 18-19.
- Fong, Y., Moldawer, L., Shires, G., & Lowry, S. (1990). The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet.*, 170(4), 363-378.
- FOUBA,. *Cátedra de Bioquímica General y Bucal. Facultad de Odontología (Universidad de Buenos Aires)*. Recuperado a partir de <http://www.odon.uba.ar/uacad/eap/unidades%20tematicas/unidad%20tematic a%201/SALIVA%20Y%20FLUIDO%20GINGIVAL-%20ASPECTOS%20BIOQUIMICOS.pdf>
- Frazier-Bowers, S., Koehler, K., Ackerman, J., & Proffit, W. (2007). Primary failure of eruption: Further characterization of a rare eruption disorder. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 131(5), 578.e1-578.e11. doi:10.1016/j.ajodo.2006.09.038
- Fuentes, M., Opperman, L., Bellinger, L., Carlson, D., & Hinton, R. (2002). Regulation of cell proliferation in rat mandibular condylar cartilage in explant culture by insulin-like growth factor-1 and fibroblast growth factor-2. *Archives Of Oral Biology*, 47(9), 643-654. doi:10.1016/s0003-9969(02)00052-3
- Furuta, Y., Fukuda, S., Chida, E., Takasu, T., Ohtani, F., Inuyama, Y., & Nagashima, K. (1998). Reactivation of herpes simplex virus type 1 in patients with Bell's palsy. *J. Med. Virol.*, 54(3), 162-166. doi:10.1002/(sici)1096-9071(199803)54:3<162::aid-jmv3>3.0.co;2-3
- Gaillard, J., Pugniere, M., Tresca, J., Mani, J., Klein, B., & Brochier, J. (1999). Interleukin-6 receptor signaling. II. Bio-availability of interleukin-6 in serum. *Eur Cytokine Netw.*, 10, 337-344.

- Gao, J., Symons, A., & Bartold, P. (1998). Expression of Transforming Growth Factor-beta 1 (TGF- 1) in the Developing Periodontium of Rats. *Journal of Dental Research*, 77(9), 1708-1716. doi:10.1177/00220345980770090701
- Gómez de Ferraris, M., & Campos Muñoz, A. (2009). *Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental*. México: Medica Panamericana.
- González-Medina, M., Malpica-Sánchez, E., & Macías-Jiménez, B. (2011). Xerostomía. *GAMO*, 10(4), 222-229.
- Gorrel, C., Andersson, S., & Verhaert, L. (2013). *Veterinary dentistry for the general practitioner* (2ª ed.). Elsevier Saunders.
- Grassi, F., Piacentini, A., Cristino, S., Toneguzzi, S., Cavallo, C., Facchini, A., & Lisignoli, G. (2003). Human osteoclasts express different CXC chemokines depending on cell culture substrate: molecular and immunocytochemical evidence of high levels of CXCL10 and CXCL12. *Histochemistry and Cell Biology*, 120(5), 391-400. doi:10.1007/s00418-003-0587-3
- Greabu, M., Battino, M., Mohora, M., Totan, A., Spinu, T., & Totan, C. et al. (2007). Could constitute saliva the first line of defence against oxidative stress?. *Rom J Intern Med.*, 45(2), 209-2013.
- Griffith, O. (1995). Nitric Oxide Synthases: Properties and Catalytic Mechanism. *Annual Review of Physiology*, 57(1), 707-736. doi:10.1146/annurev.physiol.57.1.707
- Griffith, R., Scharp, D., Hartman, B., Ballinger, W., & Lacy, P. (1977). A Morphologic Study of Intrahepatic Portal-vein Islet Isografts. *Diabetes*, 26(3), 201-214. doi:10.2337/diab.26.3.201
- Haeckel, R., & Hänecke, P. (1993). The application of saliva, sweat and tear fluid for diagnostic purposes. *Ann Biol Clin (Paris)*, 51(10-11), 903-910.
- Harokopakis-Hajishengallis, E. (2007). Physiologic root resorption in primary teeth: molecular and histological events. *J Oral Sci*, 49(1), 1-12. doi:10.2334/josnusd.49.1
- Henet, P., & Harvey, C. (1992). Diagnostic approach to malocclusions in dogs. *J Vet Dent*, 9(2), 23-26.

- Hernández Jujol, M. (2002). Mecanismos y teorías de la erupción dentaria. Estado actual. *Revista Europea De Odonto-Estomatología*, 14(6), 349-356.
- Hu, C., Sakakura, Y., Sasano, Y., Shum, L., Bringas, P., Werb, Z., & Slavkin, H. (1992). Endogenous epidermal growth factor regulates the timing and pattern of embryonic mouse molar tooth morphogenesis. *Int J Dev Biol.*, 36(4), 505-516.
- Huang, X., & Chai, Y. (2012). Molecular regulatory mechanism of tooth root development. *International Journal of Oral Science*, 4(4), 177-181. doi:10.1038/ijos.2012.61
- Hughes, T., Bockmann, M., Seow, K., Gotjamanos, T., Gully, N., Richards, L., & Townsend, G. (2007). Strong Genetic Control of Emergence of Human Primary Incisors. *Journal of Dental Research*, 86(12), 1160-1165. doi:10.1177/154405910708601204
- Hunter, G., & Goldberg, H. (1994). Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: role of glutamic acid-rich sequences in the nucleation of hydroxyapatite by bone sialoprotein. *Biochem. J.*, 302(1), 175-179. doi:10.1042/bj3020175
- Ivanovski, S., Li, H., Haase, H., & Bartold, P. (2001). Expression of bone associated macromolecules by gingival and periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, 36(3), 131-141. doi:10.1034/j.1600-0765.2001.360301.x
- Jiang, Y., Jahagirdar, B., Reinhardt, R., Schwartz, R., Keene, C., & Ortiz-Gonzalez, X. et al. (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 418(6893), 41-49. doi:10.1038/nature00870
- Jorgenson, R. (1980). Clinician's View of Hypodontia. *The Journal Of The American Dental Association*, 101(2), 283-286. doi:10.14219/jada.archive.1980.0186
- Katchburian, E., & Arana, V. (2012). *Histología e embriología oral* (3ª ed.). Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan.
- Kaufman, E., & Lamster, I. (2002). The diagnostic applications of saliva. A review. *Critical Reviews In Oral Biology & Medicine*, 13(2), 197-212. doi:10.1177/154411130201300209

- Kim, H., Ryter, S., & Choi, A. (2006). CO as a cellular signaling molecule. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 46(1), 411-449. doi:10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141053
- Kim, T., Bae, C., Lee, J., Ko, S., Yang, X., Jiang, R., & Cho, E. (2013). $\text{C}\beta$ catenin is required in odontoblasts for tooth root formation. *Journal of Dental Research*, 92(3), 215-221. doi:10.1177/0022034512470137
- King, G., Keeling, S., McCoy, E., & Ward, T. (1991). Measuring dental drift and orthodontic tooth movement in response to various initial forces in adult rats. *American Journal Of Orthodontics And Dentofacial Orthopedics*, 99(5), 456-465. doi:10.1016/s0889-5406(05)81579-3
- Kjær, I. (2014). Mechanism of Human Tooth Eruption: Review Article Including a New Theory for Future Studies on the Eruption Process. *Scientifica*, 2014, 1-13. doi:10.1155/2014/341905
- Kourie, J. (1998). Interaction of reactive oxygen species with ion transport mechanisms. *Am J Physiol*, 275, C1-C24.
- Kuru, L., Griffiths, G., Petrie, A., & Olsen, I. (2004). Changes in transforming growth factor-beta1 in gingival crevicular fluid following periodontal surgery. *Journal Of Clinical Periodontology*, 31(7), 527-533. doi:10.1111/j.1600-051x.2004.00521.x
- Kuzushima, M., Mogi, M., & Togari, A. (2006). Cytokine-induced nitric-oxide-dependent apoptosis in mouse osteoblastic cells: Involvement of p38MAP kinase. *Archives Of Oral Biology*, 51(11), 1048-1053. doi:10.1016/j.archoralbio.2006.05.004
- Lalani, Z., Wong, M., Brey, E., Mikos, A., & Duke, P. (2003). Spatial and temporal localization of transforming growth factor- β , bone morphogenetic protein-2, and platelet-derived growth factor-A in healing tooth extraction sockets in a rabbit model. *Journal of Oral And Maxillofacial Surgery*, 61(9), 1061-1072. doi:10.1016/s0278-2391(03)00319-7
- Lekic, P., Sodek, J., & McCulloch, C. (1996). Osteopontin and bone sialoprotein expression in regenerating rat periodontal ligament and alveolar bone. *Anat. Rec.*, 244(1), 50-58. doi:10.1002/(sici)1097-0185(199601)244:1<50::aid-ar5>3.3.co;2-u

- León Marín, R. (2011). *Posible papel de los mediadores proinflamatorios en la erupción dental equina* (Doctorado). Universidad Complutense de Madrid.
- Liébana Ureña, J. (2002). *Microbiología oral*. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana.
- Liu, D., Yao, S., & Wise, G. (2006). Effect of interleukin-10 on gene expression of osteoclastogenic regulatory molecules in the rat dental follicle. *Eur J Oral Sci*, 114(1), 42-49. doi:10.1111/j.1600-0722.2006.00283.x
- Liu, D., Yao, S., & Wise, G. (2012). Regulation of SFRP-1 Expression in the Rat Dental Follicle. *Connective Tissue Research*, 53(5), 366-372. doi:10.3109/03008207.2012.664204
- Liu, F., Abiko, Y., Nishimura, M., Kusano, K., Shi, S., Kaku, T., & Lin, F. (2001). Expression of inflammatory cytokines and beta-defensin 1 mRNAs in porcine epithelial rests of Malassez in vitro. *Medical Electron Microscopy*, 34(3), 174-178. doi:10.1007/s007950100012
- Llena Puy, C. (2006). La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(5), 449-455. Recuperado a partir de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-69462006000500015
- Llena-Puy, M., & Bagan, J. (2004). Clorhexidine varnish application and fluoride self-administration for dental caries control in head and neck irradiated patients A three year follow-up. *Oral Biosci Med*, 1, 187-193.
- Llena-Puy, M., Almerich-Silla, J., & Forner-Navarro, L. (2004). Determinación de ácido láctico en el dorso de la lengua: Su relación con la presencia de caries activa. *RCOE*, 9(3). doi:10.4321/s1138-123x2004000300004
- Lopez-Jornet, P., Martinez-Canovas, A., & Pons-Fuster, A. (2013). Salivary biomarkers of oxidative stress and quality of life in patients with oral lichen planus. *Geriatrics & Gerontology Int.*, 14(3), 654-659. doi:10.1111/ggi.12153
- Lumsden, A. (1988). Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Development*, 103 Suppl, 155-169.

- Mariette, X. (2004). Traitement actuel de la xérostomie au cours du syndrome de Sjögren. *La Revue De Médecine Interne*, 25(4), 287-293. doi:10.1016/j.revmed.2003.09.017
- Markakis, E. (2004). Novel Neuronal Phenotypes from Neural Progenitor Cells. *Journal of Neuroscience*, 24(12), 2886-2897. doi:10.1523/jneurosci.4161-03.2004
- Marks, S., & Cahill, D. (1984). Experimental study in the dog of the non-active role of the tooth in the eruptive process. *Archives of Oral Biology*, 29(4), 311-322. doi:10.1016/0003-9969(84)90105-5
- Marks, S., & Cahill, D. (1987). Regional control by the dental follicle of alterations in alveolar bone metabolism during tooth eruption. *Journal Of Oral Pathology & Medicine*, 16(4), 164-169. doi:10.1111/j.1600-0714.1987.tb02060.x
- Marks, S., & Schroeder, H. (1996). Tooth eruption: Theories and facts. *Anat. Rec.*, 245(2), 374-393. doi:10.1002/(sici)1097-0185(199606)245:2<374::aid-ar18>3.0.co;2-m
- Marks, S., Gorski, J., & Wise, G. (1995). The mechanisms and mediators of tooth eruption - Models for developmental biologists. *Int J Dev Biol.*;39(1):223-30., 39(1), 223-30.
- Matsuo, M., & Kaneko, T. (2000). The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals. En Z. Radák, *Free radicals in exercise and aging* (1ª ed., pp. 1-33). Human Kinetics.
- Merrilees, M., Sodek, J., & Aubin, J. (1983). Effect of cells of epithelial rests of Malassez and endothelial cells on synthesis of glycosaminoglycans by periodontal ligament fibroblasts in vitro. *Developmental Biology*, 97(1), 146-153. doi:10.1016/0012-1606(83)90072-6
- Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L., Robey, P., & Shi, S. (2003). SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of The National Academy Of Sciences*, 100(10), 5807-5812. doi:10.1073/pnas.0937635100
- Moore, K., de Waal Malefyt, R., Coffman, R., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the Interleukin-10 receptor. *Annu Rv Immunol*, 19(1), 683-765. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.683

- Moriguchi, M., Yamada, M., Miake, Y., & Yanagisawa, T. (2009). Transforming growth factor beta inducible apoptotic cascade in epithelial cells during rat molar tooth eruptions. *Anat Sci Int*, 85(2), 92-101. doi:10.1007/s12565-009-0061-y
- Nagpal, A., Sharma, G., Sarkar, A., & Pai, K. (2005). Eruption disturbances: an aetiological-cum-management perspective. *Dentomaxillofacial Radiology*, 34(1), 59-63. doi:10.1259/dmfr/14309938
- Navazesh, M., Denny, P., & Sobel, S. (2002). Saliva: A fountain of opportunity. *J Calif Dent Assoc*, 30, 783-388.
- Ohazama, A., & Sharpe, P. (2004). TNF signalling in tooth development. *Current Opinion In Genetics & Development*, 14(5), 513-519. doi:10.1016/j.gde.2004.07.008
- Okabayashi, K., Narita, T., Takahashi, Y., & Sugiy, H. (2012). Effect of Oxidative Stress on Secretory Function in Salivary Gland Cells. *Oxidative Stress - Environmental Induction And Dietary Antioxidants*. doi:10.5772/34281
- Okabayashi, K., Narita, T., Takahashi, Y., & Sugiy, H. (2012). Effect of Oxidative Stress on Secretory Function in Salivary Gland Cells. *Oxidative Stress - Environmental Induction And Dietary Antioxidants*. doi:10.5772/34281
- Orozco-Ibarra, M., & Pedraza-Chaverrí, J. (2010). Hemo oxigenasa: aspectos básicos y su importancia en el sistema nervioso central. *Arch Neurocién*, 15(1), 47-55.
- Ozbun, L., Martínez, A., Angdisen, J., Umphress, S., Kang, Y., & Wang, M. et al. (2003). Differentially expressed nucleolar TGF- β target (DENTT) in mouse development. *Dev. Dyn.*, 226(3), 491-511. doi:10.1002/dvdy.10257
- Pavlica, Z., Erjavec, V., & Petelin, M. (2001). Teeth Abnormalities in the Dog. *Acta Veterinaria Brno*, 70(1), 65-72. doi:10.2754/avb200170010065
- Proff, P., Bayerlein, T., Fanghänel, J., Allegrini, S., & Gedrange, T. (2006). Morphological and clinical considerations of first and second permanent molar eruption disorders. *Annals Of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 188(4), 353-361. doi:10.1016/j.aanat.2006.02.003

- Proffit, W. (1994). Bases biológicas del tratamiento ortodóntico. En W. Proffit & H. Fields, *Ortodoncia. Teoría y Práctica* (2ª ed., pp. 266-288). Madrid: Mosby/Doyma libros.
- Pulitano Manisigian, G., Núñez, F., & Mandalunis, P. (2012). El rol de los restos epiteliales de Malassez en el ligamento periodontal. *Rev. Fac. Odontol (Universidad De Buenos Aires)*, 27(62), 35-46.
- Quian, H., Chen, X., Bi, Y., Wang, Y., Duan, Y., & Jin, Z. (2007). Regulation of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand by interleukin-10 in human dental follicle cells. *Int Chin J Dent*, 7, 7-13.
- Rancan, L., Romussi, S., Garcia, P., Albertini, M., Vara, E., Sánchez de la Muela, M., Assessment of circulating concentrations of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines and nitric oxide in dogs with brachycephalic airway obstruction syndrome. *Am J Vet Res*. 2013 Jan;74(1):155-60. doi: 10.2460/ajvr.74.1.155.
- Rajendran, A. (2014). *Shafer's Textbook of Oral Pathology*. Elsevier Health Sciences APAC.
- Ravn, J. (1971). Aplasia, supernumerary teeth and fused teeth in the primary dentition an epidemiologic study. *Eur J Oral Sci*, 79(1), 1-6. doi:10.1111/j.1600-0722.1971.tb01986.x
- Regezi, J., & Sciubba, J. (1993). Abnormalities of teeth. En *Oral Pathology: Clinical-Pathologic Correlations* (1ª ed., pp. 494-520). Philadelphia: WB Saunders.
- Rodkey, F., & Pitts, L. (1979). Spectrophotometric measurement of carboxihemoglobin and methemoglobin in blood. *Clin Chem*, 25, 1388-1393.
- Rosenberg, H., Rehfeld, C., & Emmering, T. (1966). A Method for the Epidemiologic Assessment of Periodontal Health-Disease State in a Beagle Hound Colony. *Journal of Periodontology*, 37(3), 208-213. doi:10.1902/jop.1966.37.3.208
- Ruch, J., Lesot, H., & Bègue-Kirn, C. (1995). Odontoblast differentiation. *Int J Dev Biol*, 39, 51-68.
- Rujner, J., Socha, J., Barra, E., Gregorek, H., Madaliński, K., Woźniewicz, B., & Giera, B. (1996). Serum and salivary antigliadin antibodies and serum IgA

anti-endomysium antibodies as a screening test for coeliac disease. *Acta Paediatrica*, 85(7), 814-817. doi:10.1111/j.1651-2227.1996.tb14157.x

- Sámano, R., & Lezama, D. (1999). Influencia de las prostaglandinas en el movimiento dental ortodoncico, 56(2), 59-63.
- San Román Ascaso, F. (2006). *Historia de la odontología veterinaria*. Real Academia de Ciencias Veterinarias de España. Recuperado a partir de <http://racve.es/publicaciones/historia-de-la-odontologia-veterinaria/>
- San Román Ascaso, F., Whyte Orozco, A., & Trobo Muñiz, I. (1998). *Atlas de odontología en pequeños animales*. Madrid: EDIMSA.
- Sarrafpour, B., Swain, M., Li, Q., & Zoellner, H. (2013). Tooth eruption results from bone remodelling driven by bite forces sensed by soft tissue dental follicles: a finite element analysis. *Plos ONE*, 8(3), e58803. doi:10.1371/journal.pone.0058803
- Satrawaha, S., Wongkhantee, S., Pavasant, P., & Sumrejkanchanakij, P. (2011). Pressure induces interleukin-6 expression via the P2Y6 receptor in human dental pulp cells. *Archives of Oral Biology*, 56(11), 1230-1237. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.05.003
- Schroeder, H. (1991). Development and structure of the tissues of the tooth, clinical consideration. En H. Schroeder, *Oral structural biology: embryology, structure and function of normal hard and soft tissues of the oral cavity and temporomandibular joints* (1ª ed.). Stuttgart: Thieme.
- Shapira, J., Berenstein-Ajzman, G., Engelhard, D., Cahan, S., Kalickman, I., & Barak, V. (2003). Cytokine levels in gingival crevicular fluid of erupting primary teeth correlated with systemic disturbances accompanying teething. *Pediatric Dentistry*, 25(5), 441-448.
- Shiotani, A., Shibasaki, Y., & Sasaki, T. (2001). Localization of receptor activator of NFkappaB ligand, RANKL, in periodontal tissues during experimental movement of rat molars. *J Electron Microsc (Tokyo)*, 5(4), 365-369.
- Shipp, A., & Fahrenkrug, P. (1992). Periodontal disease. En A. Shipp & P. Fahrenkrug, *Practitioners' guide to veterinary dentistry* (1ª ed., pp. 117-147). Beverly Hills, California: Dr. Shipp's Laboratories.

- Shipp, A., & Fahrenkrug, P. (1992). *Practitioners' guide to veterinary dentistry*. Beverly Hills, Calif.: Dr. Shipp's Laboratories.
- Skrabalak, D., & Looney, A. (1993). Supernumerary tooth associated with facial swelling in a dog, *J Am Vet Med Assoc*, 203(2):266.
- Sloan, A., Perry, H., Matthews, J., & Smith, A. (2000). Transforming growth factor-beta isoform expression in mature human healthy and carious molar teeth. *Histochem J*, 32(4), 247-252.
- Slomiany, B., Aono, M., Murty, V., Slomiany, A., Levine, M., & Tabak, L. (1982). Lipid composition of submandibular saliva from normal and cystic fibrosis individuals. *Journal of Dental Research*, 61(10), 1163-1166. doi:10.1177/00220345820610101001
- Sosa Torres, M., Saucedo-Vázquez, J., & Kroneck, P. (2015). The Magic of Dioxygen. En M. Sosa Torres, J. Saucedo-Vázquez & P. Kroneck, *Sustaining life on planet Earth* (1^a ed., pp. 1-12). Heidelberg: Springer.
- Suri, L., Gagari, E., & Vastardis, H. (2004). Delayed tooth eruption: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. A literature review. *American Journal Of Orthodontics And Dentofacial Orthopedics*, 126(4), 432-445. doi:10.1016/j.ajodo.2003.10.031
- Tan, S., Xie, R., Klein-Nulend, J., van Rheden, R., Bronckers, A., & Kuijpers-Jagtman, A. et al. (2009). Orthodontic Force Stimulates eNOS and iNOS in Rat Osteocytes. *Journal of Dental Research*, 88(3), 255-260. doi:10.1177/0022034508330861
- Thesleff, I. (1995). Regulation of organogenesis. Common molecular mechanisms regulating the development of teeth and other organs. *Int J Dev Biol*, 39(1), 35-50.
- Thesleff, I. (2003). Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *Journal of Cell Science*, 116(9), 1647-1648. doi:10.1242/jcs.00410
- Thesleff, I. (2006). The genetic basis of tooth development and dental defects. *Am. J. Med. Genet.*, 140A(23), 2530-2535. doi:10.1002/ajmg.a.31360

- Thesleff, I., & Sharpe, P. (1997). Signalling networks regulating dental development. *Mechanisms of Development*, 67(2), 111-123. doi:10.1016/s0925-4773(97)00115-9
- Tishler, M., Yaron, I., Shirazi, I., Levartovsky, D., & Yaron, M. (1999). Salivary and serum soluble interleukin-2 receptor in primary Sjögren's syndrome. *Archives of Oral Biology*, 44(4), 305-308. doi:10.1016/s0003-9969(98)00114-9
- Tokuda, M., Nagaoka, S., & Torii, M. (2002). Interleukin-10 Inhibits Expression of Interleukin-6 and -8 mRNA in Human Dental Pulp Cell Cultures via Nuclear Factor-KB Deactivation. *Journal of Endodontics*, 28(3), 177-180. doi:10.1097/00004770-200203000-00008
- Ungar, P. (2010). *Mammal teeth*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Vainio, S. (1993). Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell*, 75(1), 45-58. doi:10.1016/0092-8674(93)90678-j
- Valenzuela, V., & Pavic, J. (1993). Respuesta dentaria a los movimientos ortodóncicos. Actualización de conceptos. *Rev Dent Chile*, 84, 85-92.
- Vara, E., Arias-Díaz, J., García, C., Hernández, J., & Balibrea, J. (1996). TNF-alpha-induced inhibition of PC synthesis by human type II pneumocytes is sequentially mediated by PGE2 and NO. *Am J Physiol*, 271(3 Pt 1), L359-365.
- Verstraete, F. (1999). *Autoevaluación ilustrada en odontología veterinaria*. Madrid: Grass.
- Wang, K., Niu, J., Kim, H., & Kolattukudy, P. (2011). Osteoclast precursor differentiation by MCP-1 via oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and autophagy. *Journal of Molecular Cell Biology*, 3(6), 360-368. doi:10.1093/jmcb/mjr021
- Wang, L., Zhu, H., & Liang, T. (2000). Changes of transforming growth factor beta 1 in rat periodontal tissue during orthodontic tooth movement. *Chin J Dent Res*, 3(1), 19-22.
- Wang, X. (2013). Tooth Eruption without Roots. *Journal of Dental Research*, 92(3), 212-214. doi:10.1177/0022034512474469

- Wiggs, R., & Lobprise, H. (1997). Clinical Oral Pathology. En R. Wiggs & H. Lobprise, *Veterinary Dentistry* (1ª ed., pp. 104-139). Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.
- Wise, G. (2009). Cellular and molecular basis of tooth eruption. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 12(2), 67-73. doi:10.1111/j.1601-6343.2009.01439.x
- Wise, G., & King, G. (2008). Mechanisms of Tooth Eruption and Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Dental Research*, 87(5), 414-434. doi:10.1177/154405910808700509
- Wise, G., & Yao, S. (2006). Regional differences of expression of bone morphogenetic protein-2 and RANKL in the rat dental follicle. *Eur J Oral Sci*, 114(6), 512-516. doi:10.1111/j.1600-0722.2006.00406.x
- Wise, G., Ding, D., & Yao, S. (2004). Regulation of secretion of osteoprotegerin in rat dental follicle cells. *Eur J Oral Sci*, 112(5), 439-444. doi:10.1111/j.1600-0722.2004.00156.x
- Wise, G., Frazier-Bowers, S., & D'Souza, R. (2002). Cellular, Molecular, and Genetic Determinants of Tooth Eruption. *Critical Reviews In Oral Biology & Medicine*, 13(4), 323-335. doi:10.1177/154411130201300403
- Wise, G., Frazier-Bowers, S., & D'Souza, R. (2002). Cellular, Molecular, and Genetic Determinants of Tooth Eruption. *Critical Reviews In Oral Biology & Medicine*, 13(4), 323-335. doi:10.1177/154411130201300403
- Wise, G., Yao, S., & Henk, W. (2007). Bone formation as a potential motive force of tooth eruption in the rat molar. *Clin. Anat.*, 20(6), 632-639. doi:10.1002/ca.20495
- Wise, G., Yao, S., Odgren, P., & Pan, F. (2005). CSF-1 Regulation of Osteoclastogenesis for Tooth Eruption. *Journal of Dental Research*, 84(9), 837-841. doi:10.1177/154405910508400911
- Wolff, D., & Bidlack, W. (1976). The formation of carbon monoxide during peroxidation of microsomal lipids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 73(4), 850-857. doi:10.1016/0006-291x(76)90199-6
- Yamaguchi, M. & Kasai, K. (2005). Inflammation in periodontal tissues in response to mechanical forces. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*, 53(5), 388-398.

- Yao, S., Prpic, V., Pan, F., & Wise, G. (2010). TNF- α Upregulates Expression of BMP-2 and BMP-3 Genes in the Rat Dental Follicle – Implications for Tooth Eruption. *Connective Tissue Research*, 51(1), 59-66. doi:10.3109/03008200903019703