

## Revista de la Asociación Dental Mexicana

Volumen  
Volume **60**

Número  
Number **1**




Enero-Febrero  
January-February **2003**

*Artículo:*

### Ausencia de serotonina en periodos tardíos durante la disyunción en conejos

Derechos reservados, Copyright © 2003:  
Asociación Dental Mexicana, AC

**Otras secciones de  
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in  
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



**Medigraphic.com**

# Ausencia de serotonina en periodos tardíos durante la disyunción en conejos

Laura Méndez-Oropeza,\*  
Francisco Marichi-Rodríguez,\*\*  
María G. Flores-Luna\*\*\*

\* Maestra en Odontología. Profesora de Ortodoncia en Clínica Integral Niños. Universidad Nacional Autónoma de México.

\*\* Doctor en Ciencias Odontológicas. Profesor de Ortodoncia y Fisiología en la División de Estudios de Posgrado e Investigación.

\*\*\* Doctora en Ciencias Odontológicas (patología bucal). Profesora de Patología Bucal y Medicina Bucal. Instituto para el Desarrollo y Actualización de Profesionales.

## RESUMEN

El propósito del presente estudio fue la detección de la serotonina en la sutura media palatina durante el proceso inflamatorio causado por la expansión rápida maxilar (ERM). La serotonina juega un papel importante como mediador químico en el proceso inflamatorio agudo, el cual se relaciona especialmente con la permeabilidad vascular y la producción de dolor durante la aplicación de fuerzas ortopédicas que se generan como una respuesta inflamatoria en la sutura media palatina. Al realizarse la ERM se produce la separación física del maxilar por medio de la aplicación de técnicas que pueden producir una respuesta ortopédica. Estas técnicas se usan en pacientes que necesitan un aumento en el plano transversal del maxilar principalmente durante la dentición primaria, mixta y en algunas ocasiones en la dentición permanente de acuerdo con la edad del paciente; creando modificaciones en la sutura media palatina y en otras estructuras craneofaciales que se encuentran relacionadas con el maxilar.

Veinticuatro conejos jóvenes machos de la cepa Nueva Zelanda fueron incluidos en el presente estudio, a los animales se les colocó un expansor modificado para llevar a cabo la ERM. El maxilar se disecó a los 7, 14 y 21 días después de que el aparato se insertó en la boca del conejo. Se obtuvieron muestras del tejido del maxilar; se realizó la técnica de inmunohistoquímica indirecta, utilizando un anticuerpo monoclonal de ratón contra la serotonina. La serotonina no se detectó en ninguno de los grupos experimentales.

**Palabras clave:** Expansión rápida maxilar, inflamación, serotonina inmunohistoquímica.

## Abstract

*The detection of serotonin in the mid palatal suture during the inflammatory process caused by rapid maxillary expansion (RME) was the purpose of the present study. Serotonin plays an important role as an inflammatory mediator in the inflammatory process, especially related with vascular permeability and pain production during the application of orthopedic forces, which is generated as an inflammatory response in the mid palatal suture. RME induces the physical maxillary separation with the application of techniques, which use forces that exceed the optimal limit to obtain orthodontic movements, producing an orthopedic response. These techniques are used in patients who need an increase in the maxillary width during the primary, mixed and permanent dentition; involving modifications in the middle palatal suture and other skeletal craneofacial structures.*

*Twenty-four young male rabbits from the New Zealand stock were included in the present study, and a modified expander was applied to the animals. The maxillary was dissected at inserted days 7, 14 and 21 after the appliance was into the rabbit mouth. Slides were obtained; an indirect immunohistochemical technique using a monoclonal mouse antibody directed against serotonin. Serotonin was not detected in any of the experimental groups.*

**Key words:** Rapid maxillary expansion, inflammation, serotonin, immunohistochemistry.

## Introducción

La expansión rápida maxilar (ERM) fue primero utilizada por Angell en 1860 para eliminar la constricción del maxilar. Posteriormente no se utilizó esta técnica hasta los años 50 donde nuevamente fue usada para estimular el crecimiento transversal del maxilar. La ERM consiste en la separación física del proceso maxilar, como resultado de la aplicación de fuerzas ortopédicas.<sup>1-3</sup>

Clínicamente, los primeros cambios que se observan con la aplicación de las fuerzas transversales son: la in-

clinación de los dientes posteriores, divergiendo éstos hacia el plano oclusal. Estas divergencias son resultado de la condensación y estiramiento de los tejidos.<sup>4-7</sup> Es esencial que las fuerzas aplicadas sean de suficiente magnitud para producir una respuesta ortopédica.

En 1980 Haas<sup>5</sup> propuso cinco indicaciones para la utilización de esta técnica, las cuales son: 1) En enfermos que presentan deficiencia del maxilar con mordida cruzada posterior, 2) en mal oclusión clase III de Angle con la constricción del maxilar, 3) en estenosis nasal, 4) en paladar hendido, y 5) en pacientes que presentan pro-

**Cuadro I.** Principales mediadores inflamatorios citado en Brostoff J, Male D, Roitt I. *Inmunología*. 4ª ed. Madrid España: Editorial Harcourt Brace, 1997: 14.8.

Mediador	Procedencia	Efecto
Histamina	Mastocitos, basófilos	Aumento de la permeabilidad vascular, contracción del músculo liso, quimiotaxis
5HT-serotonina 5-hidroxitriptamina	Plaquetas, mastocitos (roedores)	Aumento de la permeabilidad vascular, contracción del músculo liso
Factor activador de las plaquetas (PAF)	Basófilos, neutrófilos, macrófagos	Liberación de mediadores a partir de las plaquetas, aumento de la permeabilidad vascular, contracción del músculo liso, activación de neutrófilos
IL-8	Monocitos y linfocitos	Localización de polimorfonucleares y monocitos
C3a	Componente C3 del complemento	Degranulación de los mastocitos, contracción del músculo liso
C5a	Componente C5 del complemento	Degranulación de los mastocitos quimiotaxis de neutrófilos y macrófagos, activación de los neutrófilos, contracción del músculo liso, aumento de la permeabilidad capilar
Bradicinina	Sistema de la cinina (cininógeno)	Vasodilatación, contracción del músculo liso, aumento de la permeabilidad capilar, dolor
Fibrinopéptidos y productos de degradación de la fibrina	Sistema de coagulación	Aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis de neutrófilos y macrófagos
Prostaglandina E <sub>2</sub> (PGE <sub>2</sub> )	Vía de la ciclooxigenasa	Vasodilatación, potenciación del aumento de la permeabilidad vascular inducido por la histamina y la bradicinina
Leucotrieno B <sub>4</sub> (LTB <sub>4</sub> )	Vía de la lipooxigenasa	Quimiotaxis de neutrófilos, sinergia con PGE <sub>2</sub> en el aumento de la permeabilidad capilar
Leucotrieno D <sub>4</sub> (LTD <sub>4</sub> )	Vía de la lipooxigenasa	Contracción del músculo liso, aumento de la permeabilidad vascular
Factor quimiotáctico de neutrófilos (NCF)	Mastocitos	Quimiotaxis de neutrófilos

**Cuadro II.** Modificada. Tipos y localización de receptores serotoninérgicos citada en Goodman and Gilman. Sanders-Bush E. Mayer ES. The Pharmacological basis of therapeutics. 9ª ed. New York: McGraw-Hill 1996; 11: 251.

Tipo	Agonistas	Antagonista	Localización	Mecanismo posreceptor
5-HT <sub>1a</sub>	8-OH-DPAT	Way 100135	Núcleo del rafe, hipocampo	
5-HT <sub>1B</sub>			Subiculum, sustancia nigra	Inhibición de la adenilciclase
5-HT <sub>1D</sub>	Sumatriptán		Vasos sanguíneos craneales	
5-HT <sub>1E</sub>			Corteza, stratum	Inhibición de la adenilciclase
5-HT <sub>2A</sub>	2-Metil-5-HT, DOI	Ketanserina	Plaquetas, músculo liso, corteza cerebral	Activación fosfolipasa
5-HT <sub>2B</sub>	2-Metil-5-HT, DOI	LY53857	Fondo de estómago	Activación, fosfolipasa
5-HT <sub>2C</sub>	2-Metil-5-HT, DOI	LY53857	Plexo coroideo	Activación, fosfolipasa
5-HT <sub>3</sub>	2-Metil-5HT	Ondasetrona tropisetron	Nervios periféricos postrema	Canal para cationes
5-HT <sub>4</sub>	Renzapride	GR1130808	Hipocampo tracto gastrointestinal	Activación adenilciclase
5-HT <sub>5A</sub>			Hipocampo	Desconocida
5-HT <sub>5B</sub>				Desconocida
5-HT <sub>6</sub>			Striatum	Activación de la AC
5-HT <sub>7</sub>			Hipotálamo e intestino	Activación de la AC

blemas longitudinales con clase I de Angle que no se requiera hacer extracciones.<sup>8-11</sup>

En estudios previos, se han observado cambios histológicos: como microfracturas, incremento vascular, desorganización del tejido conjuntivo y osificación del tejido óseo inmaduro en combinación con la presencia de tejido inflamatorio.<sup>6,7,12-19</sup>

Simultáneamente a las fuerzas ejercidas, se lleva a cabo el proceso inflamatorio como una respuesta contra el estímulo generado por la aplicación de las fuerzas ortopédicas. La respuesta inflamatoria generada está mediada por una variedad de señales moleculares producidas localmente, desencadenándose por medio de: 1) el proceso biológico regulado por mediadores inflamatorios como la histamina, serotonina, activador del factor plaquetario, el ácido araquidónico, 2) el sistema inmunitario y 3) la cascada del complemento.<sup>20,21</sup>

Algunas de estas señales actúan en los capilares causando una fuerte adhesión de las células endoteliales para

lograr una superficie adhesiva, cuando pasan los leucocitos son atrapados por estas células endoteliales permitiéndole escapar a través del vaso con la ayuda de enzimas digestivas, así mismo, modificando su forma para pasar a través de la pared endotelial.

El inicio de unión de estas células endoteliales se encuentra mediado por unas moléculas denominadas selectinas las cuales ayudan a los leucocitos a transportarse hacia la pared endotelial. Posteriormente se logra una unión más fuerte con la ayuda de otras moléculas denominadas integrinas, las cuales ayudan a los leucocitos a atravesar la pared endotelial, migrando hacia el sitio de la inflamación.<sup>22,23</sup>

Las características principales de la inflamación son: aumento del suministro de sangre hacia la zona inflamada, con aumento de la permeabilidad capilar producida por la retracción de las células endoteliales y migración leucocitaria. En la fase temprana hay aumento de neutrófilos y en la crónica se observan monocitos y linfocitos (*Cuadro I*).<sup>23,24</sup>

**Cuadro III.** Animales de experimentación y controles.

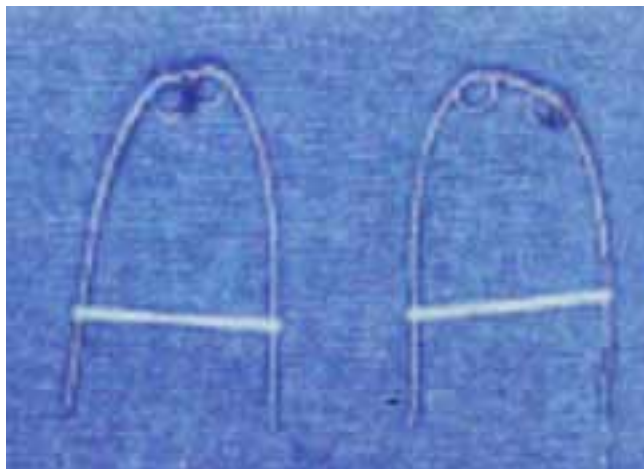
Grupo jóvenes	Tiempo de colocación (días)	Animal control	Animal experimental	Animal control	Edad semanas	Peso kilos	Total
A Jóvenes	A7E	A7C	4	2	5-7	1.0-1.5	18
	A14E	A14C	4	2	5-7	1.0-1.5	
	A21E	A21C	4	2	5-7	1.0-1.5	
B Adultos	B7E	B7C	1	1	20	3.1-4.1	6
	B14E	B14C	1	1	20	3.1-4.1	
	B21E	B21C	1	1	20	3.1-4.1	

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es un mediador bioquímico, se localiza principalmente en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal y en las neuronas, las cuales la sintetizan. La serotonina también se encuentra en las plaquetas, pero estas células no la sintetizan, únicamente la almacenan. Sin embargo, ellas pueden activarlas durante el proceso inflamatorio (*Cuadro II*).<sup>25,26</sup>

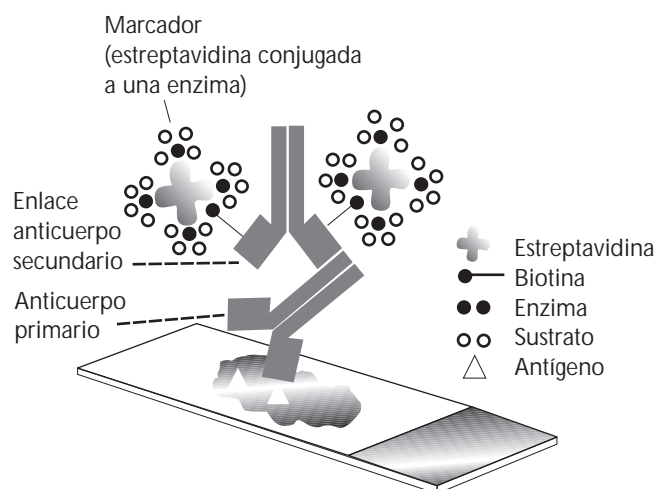
El objetivo de este estudio fue detectar la serotonina como un mediador inflamatorio durante el proceso inflamatorio agudo producido por la ERM.

## Material y métodos

Los animales experimentales usados en el estudio fueron 18 conejos jóvenes machos y seis conejos adultos machos de la cepa Nueva Zelanda. Los conejos se dividieron en dos grupos: el grupo joven al cual se le denominó como A7E, A14E, A21E y el grupo adulto como B7E, B14E y B21E de acuerdo al periodo que se mantuvo el aparato en la boca. Además se incluyó a los animales controles para cada

**Figura 1.** Bihelix previamente colocado en la boca del conejo.**Figura 2.** Conejo con el aparato *in situ*.**Figura 3.** Porción anterior, media y posterior del paladar del conejo.

grupo respectivamente (*Cuadro III*). A cada conejo se le fijó un aparato, fabricado con alambre redondo 0.018 pulgadas de TMA (Ormco™ Glendora, Ca), tipo bihelix. La composición de este alambre permite tener una alta memoria y resistencia a la deformación (*Figura 1*).<sup>27</sup>



**Figura 4.** Sistema de detección.

El aparato fue previamente activado con cuatro onzas, por cada lado (Dontrix, Unitek Monrovia, Ca), teniendo una fuerza de alrededor de 120 g. El animal se anestesió intravenosamente en la oreja con la solución de pentobarbital sódico (Sedalphorte 50 mg/kg), diluido 1:1, en suero fisiológico. El bihélix se introdujo a través de los incisivos superiores, doblando las puntas del alambre para evitar la salida de los dientes (*Figura 2*).

Todos los conejos fueron sacrificados en una cámara de éter, se disecó el maxilar de cada animal y se dividió en tres fragmentos: anterior, medio y posterior a lo largo del eje longitudinal palatino (*Figura 3*). Los fragmentos del tejido fueron fijados en solución de formaldehído al 10% amortiguado con fosfato de sodio (0.02M PBS, pH 7.6) durante 24 horas a temperatura medio ambiente y se decalcificó con una solución de EDTA al 12.5% (pH 7.0) a 4° C, durante 10-12 semanas con agitación constante. Los fragmentos fueron incluidos en parafina, posteriormente cortados a 5 µm de grosor, dos secciones se usaron para la tinción de hematoxilina y eosina (H&E) y tres para inmunohistoquímica.<sup>28</sup>

## Inmunohistoquímica

Se seleccionaron dos muestras de tejido de cada grupo representativo para la inmunohistoquímica. Se llevó a cabo la técnica de inmunohistoquímica utilizando un anticuerpo monoclonal contra pan-serotonina, 5-HT-H209 (Dakopatts, LA), diluido en una solución amortiguadora Tris-HCl a 0.05M (pH 7.6), con una concentración 1:10. El método indirecto se realizó por medio del complejo Estreptavidina-biotina conjugado con peroxidasa, como sistema de inmunodetección (LSAB, Dakopatts) (*Figura 4*).

Para poder eliminar los antígenos inespecíficos, se incubó el tejido en 98% de metanol/0.3% peróxido de hidrógeno. Posteriormente, se incubó el tejido en tripsina al 0.1% en PBS, con el propósito de realizar la predigestión enzimática. Se realizó bloqueo de los antígenos inespecíficos, con suero de bovino en PBS (1:50).

El tejido se incubó con el anticuerpo anti-serotonina (1:10). Se agregó al tejido el anticuerpo secundario y se incubó, inmediatamente después se incubó con estreptavidina-biotina conjugada con peroxidasa de rábano (1:400). Finalmente, se preparó el sustrato de diaminobenzidina (DAB) 1 mg/mL diluido en PBS al 0.02% con peróxido de hidrógeno y se realizó la contratinción del núcleo con hematoxilina de Gill. Se montaron las laminillas y se observaron por medio del microscopio de luz.

Se utilizó como control positivo para la técnica inmunohistoquímica, el tejido del fondo de estómago de conejo.<sup>29-33</sup> No se realizó ninguna prueba estadística para su estudio.

## Resultados

La ERM se confirmó por medio de radiografías que se tomaron antes y después de colocado el aparato en la boca A7E, A14E, A21E y respectivamente de los grupos controles.

Los hallazgos histológicos que se observaron con H/E de las secciones se describen como sigue:

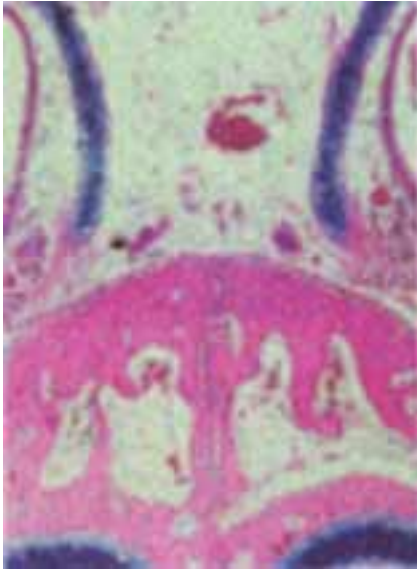
### Grupo control

La sutura media palatina estaba constituida por los procesos maxilares, el tejido conjuntivo y el tejido óseo fueron observadas bajo condiciones normales. El tejido conjuntivo se observó bien organizado con ligera vascularidad y la presencia característica de forma de serpiente de la sutura palatina (*Figura 5*).

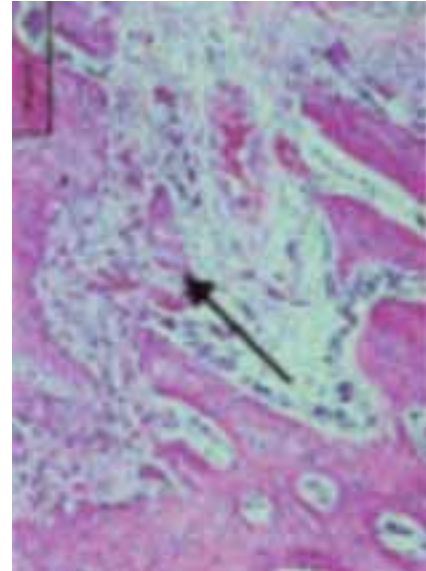
### Grupo 7 días

El grupo 7 días de conejos jóvenes experimentales se agrupó en A7E. En él se observó permeabilidad vascular, moderado edema y ligero infiltrado inflamatorio agudo en el tejido conjuntivo. El tejido conjuntivo de la sutura media palatina se observó rasgado en el plano transversal, además se encontró separada en la parte anterior, perdiendo la forma característica de serpenteo, observándose en forma de delta griega. Su base de delta griega se encontraba orientada hacia ventral mientras que su vértice hacia dorsal. Otro hallazgo histológico fue la presencia de dilatación preexistente de los espacios trabeculares de los maxilares. No se observó la presencia de áreas hemorrágicas (*Figura 6*).

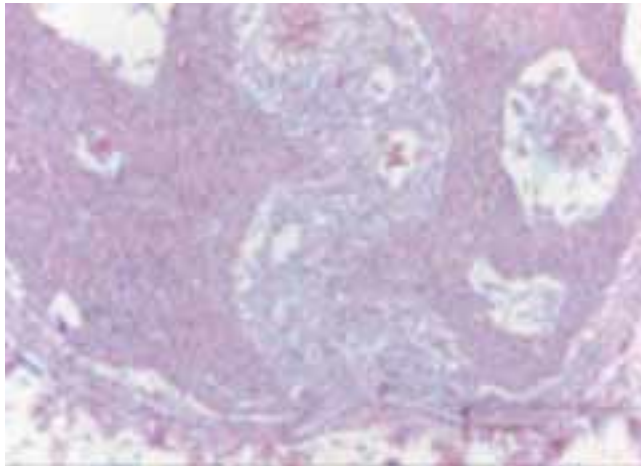




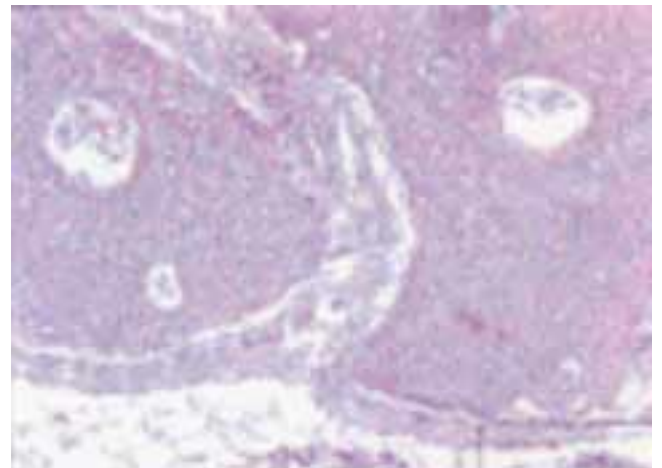
**Figura 5.** Corte histológico del grupo control. Se observan características normales en la sutura media palatina. H&E 100x.



**Figura 7.** Corte histológico del grupo A14E. Se observa desorganización del tejido conectivo, células de tipo inflamatorias y microfracturas en el tejido óseo (flecha). H&E 200x.



**Figura 6.** Corte histológico del grupo A7E. Se observa la separación de la sutura palatina, en forma de "delta griega" con la presencia de pocas células inflamatorias agudas y edema. H&E 200x.



**Figura 8.** Corte histológico del grupo B7E. Se observa ausencia de la separación de la sutura media palatina y desorganización del tejido. H&E 200x.

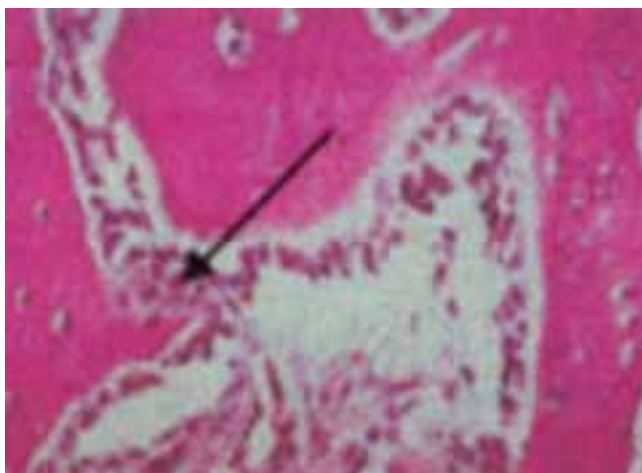
Los conejos adultos experimentales se agruparon en B7E, en este grupo no se llevó a cabo la separación de la sutura media palatina. Se observó una ligera desorganización del tejido conjuntivo, con ausencia de infiltrado inflamatorio y edema (*Figura 7*).

#### Grupo 14 días

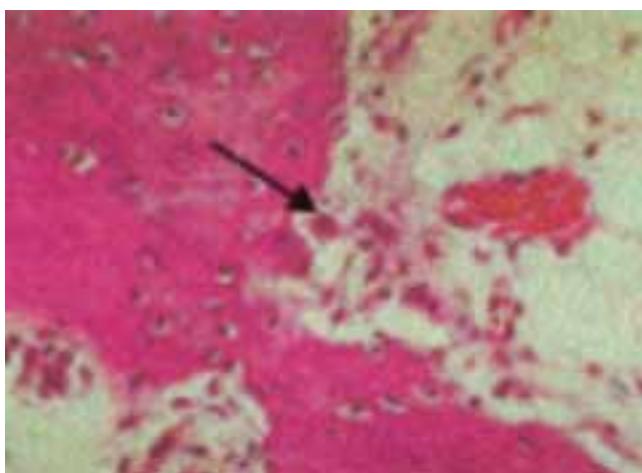
Este grupo de conejos jóvenes experimentales se agrupó en A14E, aquí se pudo observar aumento en cantidad de células inflamatorias, ligero infiltrado linfocítico. Se en-

contró presente un aumento en la permeabilidad vascular asociado con la presencia de edema tisular y desorganización del tejido conjuntivo en la sutura media palatina. La resorción ósea en los bordes de los procesos maxilares, se manifestó como una ligera pérdida del trabeculado asociado con la desorganización de la forma del serpenteo característico, además se observaron fragmentos de hueso libres en él. No se observaron áreas hemorrágicas.

Los conejos adultos experimentales se agruparon en B14E, en este grupo no se observó la separación de la



**Figura 9.** Corte histológico del grupo A21E. Se observa un anillo osteoblástico alrededor de la línea aposicional. H&E 200x.



**Figura 10.** Corte histológico del grupo A21E. Se observa un osteoclasto (flecha) cerca del reborde óseo. H&E 200x.

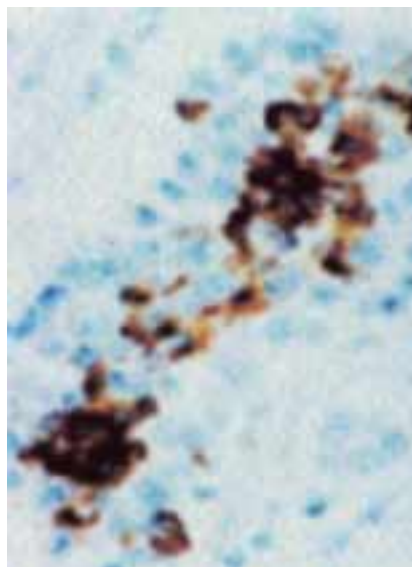
sutura media palatina. Además tampoco se observó infiltrado inflamatorio y edema tisular. Únicamente se observó histológicamente una moderada desorganización del tejido conjuntivo (*Figura 8*).

#### Grupo 21 días

Los conejos jóvenes experimentales de este grupo se agruparon en A21E, se encontró disminuido el infiltrado inflamatorio comparado con los grupos A7E y A14E. Se observó un osteoblasto activo en contacto con los bordes óseos, y una línea aposicional de tejido osteoide (*Figura 9*). Se encontraron presentes escasos osteoclastos cerca del reborde trabecular óseo. No se observaron áreas hemorrágicas (*Figura 10*).



**Figura 11.** Tinción de inmunohistoquímica del grupo A14E. No se observan resultados positivos en la detección de serotonina. 200x.



**Figura 12.** Tinción de inmunohistoquímica, fondo del estómago de conejo. Se observan gránulos de serotonina, en localización intracitoplasmática, en las células enterocromafines 1000x.

En el grupo B2l experimental, no se observó ningún infiltrado inflamatorio ni edema tisular.

#### Resultados inmunohistoquímicos

La serotonina no se detectó en ninguno de los grupos experimentales (*Figura 11*). Se observaron sólo resulta-



dos positivos en el fondo de estómago del conejo, el cual sirvió de tejido testigo. Se observaron gránulos intracitoplasmáticos de color castaño fuerte en las células enterocromafines de este tejido (*Figura 12*).

## Discusión

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron de este estudio, no fue posible detectar la presencia de la serotonina en la sutura media palatina durante la ERM en los conejos. Algunos factores que se relacionaron con los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes:

El recambio metabólico de la serotonina tiene un período de tiempo muy corto de entre 1 a 72 horas, excretándose como metabolito 5-HIAA a través de la orina,<sup>25</sup> esto significa que la serotonina es una molécula de proteína muy inestable y lábil, por lo que probablemente sea una de las razones por lo cual se dificultó el poder observarla bajo el método inmuno-enzimático convencional.

El formaldehído es un agente de fijación que se utiliza muy comúnmente en inmunohistoquímica. En la fijación del formaldehído existe una transformación de las aminos en los componentes insolubles del tejido, entonces esta fijación podría haber alterado la antigenicidad, ya que el formaldehído pudo inducir la unión cruzada entre 5-HT y proteínas acarreadoras.<sup>33</sup> Por otro lado, el período de descalcificación prolongado que tuvieron los tejidos (entre 10 a 12 semanas) usando una solución de EDTA saturada la cual también pudo haber alterado la antigenicidad.

En el presente estudio, la expansión rápida del maxilar producida por la aplicación de fuerzas ortopédicas se realizó con éxito en el grupo de conejos jóvenes experimentales. Sin embargo, usando la misma magnitud de fuerza ortopédica y el mismo período en ambos grupos experimentales, solamente se produjo la expansión dentoalveolar en el grupo de conejos adultos. Estos resultados sugirieron que al encontrarse hialinizada la sutura maxilar en los conejos, se dificulta producir la separación en el plano transversal de los procesos palatinos.

Kanekawa y col., estudiaron los cambios de regeneración del hueso relacionados con la edad del paciente durante la ERM, utilizando un análisis histomorfométrico para su estudio. Ellos encontraron que había una respuesta de mayor resistencia para poder efectuarse la ERM relacionada directamente con la edad del paciente.<sup>34</sup>

En el presente estudio observamos aposición de tejido osteoide, depositado en la superficie externa de la sutura maxilar en el grupo de conejos jóvenes experimentales. También, se observó la presencia de escasos osteoclastos en los espacios trabeculares de algunas áreas de los procesos maxilares, sugiriendo que las fuerzas ortopédicas produjeron resorción ósea. Por otro lado recientemente, Jein-Wein L y col., utilizaron un expansor

maxilar ortodóntico, activándolo un milímetro todos los días, los resultados que obtuvieron fue la iniciación de tejido de neoformación ósea.<sup>35</sup>

En el presente estudio se fabricó un aparato bihéliz, construido con alambre TMA 0.018", el cual se colocó en los incisivos superiores anteriores durante toda la fase experimental. La activación del aparato no fue corroborada debido al diseño del aparato bihéliz. Se planea utilizar un expansor maxilar fijándolo al tejido óseo para poder dirigir y controlar las fuerzas durante la fase experimental.

## Conclusiones

No fue detectada la serotonina en la sutura del maxilar durante la ERM por medio de la técnica inmunoenzimática. Sin embargo, es de nuestro interés continuar el estudio acerca de la activación de otras moléculas que participan como mediadores químicos en la respuesta inflamatoria producida por la ERM, dirigiendo la atención a moléculas como la histamina, la IL- $\beta$ 3, IL-8, IL-12 y prostaglandina E2.

## Reconocimientos

Agradecemos la desinteresada colaboración del biólogo Víctor Romero Díaz por sus consejos en la técnica de inmunohistoquímica, al médico veterinario René Olivera por la donación de los conejos adultos y al técnico de laboratorio Teodoro Pérez por su ayuda en la técnica de hematoxilina y eosina.

## Bibliografía

1. Haas AJ. The treatment of the maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. *Angle Orthod* 1965; 35(3): 200-217.
2. Wetz R. Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. *Am J Orthod* 1970; 58: 41-61.
3. Haas AJ. Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. *Angle Orthod* 1961; 31(2): 73-90.
4. Harberson A, Myers D. Midpalatal suture opening during functional posterior cross-bite correction. *Am J Orthod* 1978; 74(3): 310-313.
5. Da Silva O, Boas M, Capelozza L. Rapid maxillary expansion in the primary and mixed dentition: A cephalometric evaluation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991; 100(2): 171-179.
6. Bell R. A review of maxillary expansion in relation to rate of expansion and patient's age. *Am J Orthod* 1982; 81: 32-37.
7. McNamara J, Brudom L. *Tratamiento ortodóntico y ortopédico en la dentición mixta*. 2a ed. USA: Needham press, 1995; 135-137.

8. Haas AJ. Palatal expansion: Just the beginning of dentofacial orthopedic. *Am J Orthod* 1970; (3): 219-257.
9. Haas AJ. Long-term treatment of rapid palatal expansion. *Angle Orthod* 1980; 50: 89-218.
10. Isaacson R, Murphy 1. Some effects of rapid maxillary expansion in cleft lip and palate patients. *Angle Orthod* 1964; 34(3): 143-154.
11. Hershey H, Stewart L, Warren W. Changes in nasal airway resistance associated with rapid maxillary expansion. *Am J Orthod* 1966; 69(3): 274-284.
12. Sandikcioglu M, Hazar 5. Skeletal and dental changes after maxillary expansion in the mixed dentition. *Am J Orthod* 1997; 11:321-327.
13. Adkins M, Nanda R. Arch perimeter changes on rapid palatal expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995; 97: 194-199.
14. Moss J. Rapid expansion of the maxillary Arch Part 1. *JCO* 1969; 165-171.
15. Timms O. A study of basal movement with rapid maxillary expansion. *Am J Orthod* 1980; 5: 500-507.
16. Cleall J, Bayne O, Posen J, Subtelny, J. Daniel. Expansion of the midpalatal suture in the monkey. *Angle Orthod* 1965; 35(1): 23-35.
17. Ekström C, Henrikson C, Jensen R. Mineralization in midpalatal suture after orthodontic expansion. *Am J Orthod* 1977; 71(4): 449-455.
18. Droschi L. The effect of heavy orthopedic forces on maxilla. *Am J Orthod* 1973; 449-461.
19. Chang JY, McNamara JA, Herberger A. A Longitudinal study of skeletal side effects induced by rapid maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997; 112(3): 330-307.
20. Brosoj J, Male O, Roit 1. Inmunología. 4a ed. Madrid España: Ed. *Harcourt Brace* 1997:14.7-14.9.
21. Prescott A, White VM, Kalimer AM. *Basis principles and clinical correlates*. 2a ed. New York: Edited by JI. Gallin, I.M Goldstein, and R. Snyderman Published by Rayen Press Ltd, 1992:193-208.
22. Bruce A, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberst K, Watson J. *Molecular biology of the cell*. 3ª ed. New York. Garland Publishing Inc, 1164-1165.
23. Russell 5, Quentin N, Nancy N. *Fundamental of immunology for students of medicine and related sciences*. 1969: 187-202.
24. Trowbridge HO, Enling RC. Inflammation. Fifth ed. United States: *Quintessence* 1997; 3-18.
25. Abba 1, Tristram P. *Inmunología básica y clínica. Inflamación*. México D.F: Editorial El Manual Moderno, 1996; 11: 173-189
26. Goodman Gilman's. *The Pharmacological basis of therapeutics*. 9a ed. New York: Editorial Mc. Graw-Hill, 1996: 249-263.
27. Ten Cate AR, Freeman E, Oickinson JB. Sutural development: Structure and its response to rapid expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1977: 622-636.
28. Bancroft JO, Page K, Stevens SA, Lowe J, Turner O. *Theory and practice of histological techniques*. 3a ed. Gran Bretaña: Editorial Churchill Livingstone, 1990: 309-340.
29. Lippincott JB. *Diagnostic cytology and its histopathologic bases*. 2(34): 1532-1545.
30. True LDJ. *Atlas of diagnostic immunohistopathology*. 4a ed. Philadelphia: Editorial Gover Medical, 1990: 1.7-2.17.
31. Taylor RC. Immunoperoxidase techniques. *Arch Pathol Lab Med* 1978; 102: 113-121
32. Flores-Luna MG. Immunohistochemical localization of type I, II and IX collagens in pleomorphic adenoma of human salivary glands. *J Stomat Jpn Society* 1996; 63(1): 122-130.
33. Schipper J, Tilders F. A new technique for studying specificity of Immunocytochemical procedures: Specificity of serotonin Immunostaining. *Histochem Cytochem* 1983; 31(1): 12-18.
34. Kanekawa M, Shimizu N. Age-related changes on bone regeneration in midpalatal suture during maxillary expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998; 114(6): 646-653.
35. Jein-Wein LE, Figueroa A, Polley J. Rapid orthodontic tooth movement into newly distracted bone after mandibular distraction osteogenesis in a canine model. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2000; 117(4): 391-398.

Reimpresos:

Laura Mendoza-Oropeza

Bulgaria No. 513

Col. Vértiz Narvarte C.P. 03250 México, D.F.

E-mail: antonioylaura@prodigy.net

ó rof2@servidor.unam.mx

Este documento puede ser visto en:

www.medigraphic.com/adm