

FACTORES BIOQUÍMICOS Y CELULARES EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA PULPAR EN LOS EQUINOS Y SU IMPORTANCIA EN LA FARMACOTERAPIA ACTUAL PARA LA ABOLICIÓN DEL DOLOR PRE, INTRA Y POSOPERATORIO ENDODÓNTICO

M.C. Esp. En Anest., Subesp. Anest. Cardio., Subesp. En Clin. Del dol., Subesp. En Anest. Estomatol., MVZ, Esp. En Anest. Vet., Subesp. En Cardiol., Subesp. En Odontol., Dipl. Med. Y Cir. De Peq. Esp. Cert., M. en C. de la Edu. Sup. Biom. Rafael Argueta López.

Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) Universidad Nacional Autónoma de México. Práctica privada. Anestesiología. Académico Investigador. Toluca, Estado de México.

M.C. Esp. En Anest. Subesp. Anest. Ped. Rafael Argueta García.

Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), Toluca, Estado de México. Académico-exclusividad de tiempo completo definitivo. Adscrito al servicio de anestesiología pediátrica del Hospital para el Niño del DIFEM. Toluca, México desde 1981 a la fecha.

Correspondencia: Pase Tollocan esq. Jesús Carranza s/n, Colonia Universidad, Facultad de Odontología de la UAEM, Toluca, Estado de México. E-mail: ravetmx13@hotmail.com, facebook: [facebook.com/rafael.argueta1](https://www.facebook.com/rafael.argueta1), Twitter: twitter.com/ArguetaAnest

E.C.D. Dipl. En Odontol. Vet. Ana María Berlín Gómez. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México. Toluca, Estado de México. Estudiante e Investigadora de tiempo completo. Odontología Veterinaria en Pequeñas Especies, Equinos y Fauna Silvestre.

RESUMEN

La enfermedad pulpar dental es un desorden bucal común de los caballos y de gran impacto en la práctica de la clínica del dolor y anestesiología estomatológica veterinaria en equinos. Desafortunadamente, el examen oral realizado por la mayor parte de los médico veterinarios especialistas en equinos consiste sólo en separar los labios, observar los incisivos y colocar un dedo en el carrillo para palpar puntas sobre los primeros dientes superiores del carrillo. Este tipo de examen detecta sólo un pequeño porcentaje de las

enfermedades, poniendo en riesgo no solo la salud bucal del equino sino la vida del animal. Los tratamientos que se realizan con mayor frecuencia en odontología equina son profilaxis, procedimientos de limado y restauraciones de los dientes. Otras alternativas terapéuticas como la práctica de la endodoncia en equinos se realizan con menor frecuencia debido a la complejidad y costo de los procedimientos, aunque esto es cuestionable ya que en esta especie los propietarios rara vez se niegan a pagar los servicios profesionales y subespecializados. Para lograr adecuada prevención, diagnóstico y tratamientos de patología pulpares es necesario una evaluación detallada, exámenes periódicos de la cavidad oral, imagenología y adiestramiento académico y práctico en estas subespecialidades médicas, tanto la anestesiología estomatológica, clínica del dolor y odontología y su especialidad de endodoncia, las cuales en la actualidad ya están en diferentes ciudades de México y el extranjero. Por lo tanto y por principio es necesario en endodoncia y clínica del dolor en este caso el pulpar dental es necesario conocer parte de la fisiopatología de éste a través de una revisión sobre la importancia del proceso inflamatorio en esta estructura y su participación en la aparición de signos y síntomas álgicos en equinos; así como el reporte de casos que los autores hemos atendido en la práctica de estas maravillosas áreas del conocimiento con el fin de actualizar al clínico con las diversas opciones que en terapéutica del dolor pulpar equino se tienen en la actualidad. Así mismo hacemos un intenso recorrido fisiopatológico para dar a conocer la semejanza absoluta en los procesos biológicos que se dan en humanos y en caballos en cuanto a inflamación y dolor se refiere y esto es aplicable a casi todas las especies de la práctica de la medicina veterinaria, en la actualidad lo único que difiere en cuanto a medicina humana y medicina veterinaria es únicamente el lenguaje, los pacientes veterinarios no pueden decir al médico me duele, como lo hace un paciente humano, sin embargo el primero manifiesta signos y síntomas que el clínico razona y procesa para diagnosticar a estos pacientes veterinarios, en definitiva hoy en día se dejaron los viejos mitos, y sabemos con absoluta certeza que ambas carreras médicas y la odontología son totalmente iguales en humanos y pacientes veterinarios, con las diferencias obvias morfoanatómicas.

Palabras clave: odontología equina; dolor pulpar; anestesia estomatológica, clínica del dolor, inflamación pulpar equina.

INTRODUCCIÓN

Enfermedad endodóntica en equinos se produce cuando la pulpa dental (el tejido conectivo, vasos sanguíneos y los nervios en el centro del diente) se infecta o se inflama. La pulpa está protegida de las bacterias por el esmalte impermeable que cubre la dentina de la corona. Daños en el esmalte, ya sea a

través de un trauma o de una alteración del desarrollo que permite que las bacterias alcancen la pulpa, se traducirá en pulpitis y, posiblemente, necrosis de la pulpa. Los tratamientos erróneos también puede lesionar la pulpa más allá de su capacidad de curar. Un diente con la exposición directa de la pasta en un sitio de la fractura requiere un tratamiento de endodoncia o extracción. Los dientes se fracturan por trauma externo (por ejemplo, la captura de las rocas, los impactos en carreras, el juego agresivo) o de morder objetos inapropiados (por ejemplo, los paredes, pezuñas, alimento duro, rocas, cercas, o jaulas). Una pulpa inflamada o muerto libera mediadores de la inflamación en los tejidos periapicales, por donde sale el diente enfermo por el delta apical en la punta de la raíz o por medio de los conductos laterales. Los tejidos en estos sitios desarrollar un granuloma, quiste o absceso. La caries es una infección bacteriana del diente, cuando ocurren, pueden rápidamente infectar la pulpa.

EL COMPLEJO PULPO-DENTINARIO EN EQUINOS

El complejo pulpo-dentinario es un concepto importante para entender la patobiología de la dentina y de la pulpa. Durante el desarrollo, las células pulpares producen dentina, nervios, y vasos sanguíneos. Aunque la dentina y la pulpa tienen diferentes estructuras y composiciones, una vez formadas reaccionan frente al estímulo como una unidad funcional. La exposición de la dentina a través de la atrición, el trauma, o la caries produce reacciones pulpares profundas que tienden a reducir la permeabilidad dentinal y a estimular la formación de dentina adicional. Estas reacciones son llevadas a cabo con cambios en los fibroblastos, nervios, vasos sanguíneos, odontoblastos, leucocitos, y el sistema inmune. La relación funcional entre la pulpa y la dentina se puede observar en varios aspectos:

- | |
|--|
| • La pulpa es capaz de crear dentina fisiológicamente y en respuesta a un estímulo externo. |
| • La pulpa contiene nervios que aportan la sensibilidad dentinaria. |
| • El tejido conectivo pulpar es capaz de responder a lesiones dentinarias, sin ser estimulado directamente. |
| • La encapsulación de la pulpa dentro de la dentina crea un ambiente que influencia negativamente su potencial de defensa. |

RESPUESTA INFLAMATORIA PULPAR EN CABALLOS

Aunque la pulpa dental comparte muchas propiedades con otros tejidos conectivos del organismo, su peculiar localización la dota de importantes características especiales. Cuando se lesiona la pulpa coronal se produce una inflamación. Como parte de esta reacción, habrá un aumento de la permeabilidad vascular y una filtración de líquidos hacia los tejidos

circundantes. A diferencia de la mayoría de tejidos blandos, la pulpa carece de espacio para hincharse.

La pulpa dental dispone de una irrigación muy rica que, gracias al intercambio dinámico de líquidos entre los capilares y los tejidos, genera y mantiene una presión hidrostática extravascular en el interior de esta cámara rígida. La presión intrapulpar puede verse aumentada en una zona aislada de la pulpa y sobrepasar el umbral de las estructuras sensitivas periféricas de la zona; de esta manera se generaría el dolor. La fuente principal de irrigación sanguínea de la pulpa se encuentra a una distancia considerable de la masa principal de tejido coronario. Las lesiones pulpares en equinos serán en su mayoría de características irreversibles y de grado 5 a 8 en EVA. (Argueta, 2012)

ETIOLOGÍA DE LA PATOLOGÍA PULPAR EN EQUINOS

Vía natural:

- a. Caries
- b. Traumatismos (fractura, luxación, bruxismo...)
- c. Atrición
- d. Abrasión
- e. Anomalías morfológicas dentales (diente invaginado, dens in dente...)
- f. Envejecimiento
- g. Idiopáticas (reabsorción interna)
- h. Enfermedades generales (hipofosfatemia hereditaria...)

Provocadas por el clínico veterinario:

- a. Preparación de cavidades (calor, secado, exposición pulpar...)
- b. Colocación de materiales irritantes
- c. Colocación de sustancias medicamentosas
- d. Microfiltración
- e. Movimientos ortodóncicos
- f. Raspado periodontal

INFLAMACIÓN Y DOLOR PULPAR EN EQUINOS

Los dos componentes clave en la inflamación pulpar en equinos son la microcirculación y la actividad de las fibras nerviosas sensoriales. La emoción de la A- δ fibras parece tener un efecto insignificante sobre el flujo sanguíneo pulpar, mientras que la activación de las fibras C causa un aumento de ella. Este aumento inducido por las fibras C es causada por neuroquininas, especialmente Sustancia P, que se libera desde las terminales nerviosas de fibras C. La alteración del flujo sanguíneo pulpar tiene diferentes efectos sobre la actividad de los nervios sensoriales. El pro-inflamatorio neuropéptido Sustancia P fue mencionado por primera vez alrededor de los años 30 y se

avanzó mucho en relación a su estudio. *Harrison Selena (2001)* demostró que la sustancia P está implicada tanto en la inflamación y el dolor pulpar, y esto lo comprobamos en equinos (Argueta, 2012)

Ya que los niveles extracelulares de la sustancia P se incrementan en pulpa sintomático tejido diagnosticados con pulpitis irreversible. Estudios posteriores han encontrado que es involucrado en la extravasación de plasma y por lo tanto en la formación de edema (fluido la acumulación en el espacio intersticial). La inflamación neurogénica que es el resultado de liberación de neuropéptido periférico provoca cambios en la permeabilidad vascular de la dental pulpa. El SP provoca una vasodilatación y la contracción de células endoteliales, causando una fuga incrementada de proteínas plasmáticas. Estos efectos están mediados por la proteína G asociada con receptor NK-1. Aunque su acción no es tan rápida como canales de iones, receptores asociados a proteínas G tienen un amplio impacto por tratarse de segunda mensajeros tales como AMPc, GMPc y IP3. *Bowles Walter R (2003)*. Un aumento de 8 veces en SP, se observó en el tejido pulpar diagnosticados con pulpitis irreversible contra tejido pulpar normal. Por lo tanto, la pulpitis irreversible está asociada a esta importante activación del sistema peptidérgico. El dolor odontogénico implica a menudo el tejido pulpar inflamación. La pulpa dental está muy inervada con una subpoblación de sensorial las neuronas que contienen neuropéptidos. La sustancia P liberada de las fibras aferentes (por ejemplo, nociceptores) está asociada con el desarrollo de la inflamación neurogénica. Esta Aumento SP extracelular puede afectar a la compleja interacción entre células de la pulpa, las células inmunocompetentes, los vasos sanguíneos y fibras nerviosas. La restauración de la celulosa también implica neuropéptidos. Estos se definen como se sintetizó péptidos neurotransmisores o neuromoduladores y liberados por las neuronas que desencadenar efectos biológicos mediante la activación de receptores en la membrana plasmática de sus glóbulos blancos. *Azuero-Holguín M. M, et al (2008)*.

Tienen un papel inmunomodulador de reclutamiento de células inmunocompetentes, que también pueden expresan receptores funcionales para Neuropéptidos, lo que sugiere un papel importante de los neuropéptidos en la pulpa dental, involucrados en dolor, inflamación, protección y reparación, pero cuando se pierde la homeostasis de estos procesos es cual se presentan los eventos nociceptivos característicos y propis de la especie. (Azuero et al, Argueta; 2012)

BIOQUÍMICA DE LA INFLAMACIÓN Y DOLOR PULPAR EN EQUINOS

Una gran variedad de mediadores químicos endógenos se han asociado con la inflamación y el dolor asociado con la inflamación, y hemos investigado en la actualidad a algunos de ellos que son los principales involucrados en la génesis nociceptiva pulpar que son los mismos que se mencionan en humanos. Estos mediadores son histamina, bradicinina, 5-hidroxitriptamina, y

prostaglandina E2, prostaciclina, GRPC y FNT alfa. (Argueta, et al; 2012) La bradiquinina (BK) es un potente mediador de la inflamación y el dolor. Se puede estimular terminales nociceptivos periféricos para causar dolor y sensibilizar las fibras nerviosas hasta térmico, químicos y estímulos mecánicos. También puede actuar sinérgicamente en combinación con otras sustancias, tales como prostaglandinas y 5-hidroxitriptamina para producir signos y síntomas de inflamación aguda. Bradicina respuestas inflamatorias incluyen vasodilatación, extravasación plasmática y el reclutamiento de células inflamatorias. También inducen otros efectos secundarios que pueden conducir a la producción de mediadores inflamatorios adicionales. Los niveles extracelulares de bradiquinina son significativamente elevados durante irreversible pulpitis. El nivel extracelular de BK es mayor en pacientes que han informado dolor histórico, en comparación con los pacientes que tenían dolor en la colección de la bradiquinina tiempo. Esto sugiere que la plasticidad en el sistema BK que en gran medida puede contribuir en las etapas de la inflamación y el dolor. La irritación de la pulpa dental producidos por las bacterias, los estímulos mecánicos o químicos puede causar inflamación. Además de la activación de otros sistemas, tales como el cininas, coagulación, y el sistema de complemento, estos estímulos pueden causar la conversión enzimática del ácido araquidónico en un mediadores grupo biológicamente activo. Estos son los hidroperoxieicosanoico, hidroxieicosanoico, los leucotrienos, las PGs, y ácido tromboxano.

Las prostaglandinas se han implicado en muchos aspectos de los procesos de inflamación, incluso vasodilatación, vascular permeabilidad aumentado, hueso la resorción, quimiotaxis, y dolor. PGs se sintetizan a través de la enzima COX. La síntesis de PG es iniciada por la descomposición del ácido araquidónico, por la acción de la fosfolipasa A2 la célula de fosfolípidos de la membrana. El ácido araquidónico a través del metabolismo COX causa la producción de PG. COX es la enzima limitante en la producción de PG. Dentro de la familia PG, PGE 2 se ha documentado en la enfermedad de pulpa. Chan *Yu-Chao et al (2003)* . PGE2 es un potente estimulador de la resorción ósea. La síntesis de PGE2 está regulada por múltiples pasos metabólicos que implican varias enzimas diferentes. COX es uno de los enzimas responsables de la conversión de ácido araquidónico a PGE2.

Chang MC et al (2006) COX- 2 es una enzima inducible cree que es responsable de la síntesis de PG en el sitio de inflamación debido a que ocurre en los niveles bajos o indetectables en tejidos sanos y en niveles aumentados en el tejido inflamado; mediadores inflamatorios tales como IL-1, TNF- α factores de crecimiento, LPS, y las células tumorales son estimuladores de la de la COX-2 expresión. El PG E2 y F2 se pueden identificar en pulpa inflamada y no inflamadas tejido. En las pastas con inflamación crónica asintomática, valores significativamente más altos de PGE2 fueron encontrados, pero no de PGF2- α . El tejido pulpar que tenía dolor, mostró concentraciones más altas de ambos PGs que aquellos sin dolor, esto puede ocurrir como resultado daño tisular significativo y la lisis celular que se observa en las pulpas dolorosas

expuesto a la caries dental y también por la adición de los leucocitos polimorfonucleares al tejido inflamado. PGE₂ puede ser capaz de producir dolor pulpa en dos diferentes maneras. Primero, presenta cualidades hiperalgésicas, que sensibiliza a la nociceptivo terminaciones nerviosas.

La introducción de PGE₂ en el tejido causado una acumulación de AMPc o la activación de la adenilato ciclasa (AC). La PGF 2- α no tiene efecto sobre el AMPc salvo en muy altas concentraciones. Sin embargo, la PGF 2- α ha demostrado que puede aumentar el GMPc niveles en diversos tejidos. El AMPc y GMPc parece ser responsable de un número de efectos adversos. El AMPc dilata el músculo liso vascular, mientras GMPc se contrae. El GMPc mejora la quimiotaxis, mientras que el AMPc es retardado. El GMPc induce la liberación selectiva de enzimas lisosomales mientras AMPc inhibe tal liberar. Los aumentos de AMPc causar una hiperpolarización, que reduce el nervio impulsos de transmisión. Por el contrario, el GMPc, que aparentemente se incrementa en inflamación crónica, provoca la despolarización de algunas neuronas colinérgicas. El dolor puede ser entonces, controlada por el predominio de un nucleótido cíclico sobre otra durante las diferentes fases de la respuesta inflamatoria. Las acciones de al menos cinco neurotransmisores están mediadas por el AMPc. La media GMPc las actividades delos otros cuatro. El neurotransmisor llamado histamina, acetilcolina, noradrenalina y la dopamina se han encontrado en animales y humanos pulpas dentales. Todos estos neurotransmisores han sido implicados en la producción de dolor. Por lo tanto, estos segundos mensajeros intracelulares (AMPc y GMPc), que actúan desde el activación de receptores de membrana de plasma acoplados a proteínas G, también desempeñan un papel importante durante la respuesta inflamatoria y el dolor odontogénico. Por otro lado la IL-1 y el TNF α regulan la expresión de COX-2 en células de pulpa humanos y pacientes veterinarios de experimentación. Esto sugiere que uno de los mecanismos patogénicos de inflamación pulpar in vivo pueden ser la síntesis de COX-2 por las células residentes en respuesta a un desafío citoquinas proinflamatorias. Por lo tanto, la COX-2 puede jugar un papel importante en la regulación de la formación de prostanoïdes en la patogénesis de inflamación pulpar. Desde 1995, Tani-N Ishii *et al* han demostrado que cantidades crecientes de proinflamatoria citoquinas, tales como (IL) -1 y tumor necrosis TNF- α puede inducir en pulpitis ratas. Además, los estudios han demostrado que la IL-1 y TNF- α regular matriz metaloproteïnasa y el activador de plasminógeno de tejido de pulpa dental humana las células. Estas conclusiones destacan la importancia de las citocinas proinflamatorias en la lesión pulpa. En el mismo año, Sundqvist *G et al* mencionó que las células de la pulpa tiene demostraron la capacidad de secretar PGE₂ y por lo tanto, como se cree, son involucrados en la destrucción del tejido de la enfermedad pulpar. Aumento de la producción de PGE₂ tiene ha demostrado en las lesiones periapicales, lo que explica en parte la resorción ósea *Mapache David (2007)* Los niveles de PGE₂. En los conductos radiculares perirradicular exudados asociado con síntomas clínicos de endodoncia patología, especialmente con la inicio del dolor. dentro de la familia de citoquinas, la interleuquina-1 (IL-1) se puede colocar dentro de la

moléculas propiedades proinflamatorias La IL-6 y IL-8, modulan la serie blanca de respuesta inmune celular. En última instancia, es por eso que facilitar el proceso inflamatorio.

La IL-6 es una citocina que puede ser producida por varias células como linfocitos T y B, monocitos / macrófagos, fibroblastos y células endoteliales osteoblastos. Desde excesiva de IL-6 y los niveles de prostaglandinas se han relacionado con la patogénesis varias enfermedades inflamatorias, esta los resultados del estudio sugiere la participación de los fibroblastos en el desarrollo de pulpitis través producción de IL-6 y COX-2. *Lin Sze-Kwan (2002)* Sin embargo, estas reacciones tienden a volverse incontrolada o sobreexpresa durante el mayoría de inflamatorio procesos y eventualmente con plomo a tejido destrucción. Por lo tanto, los niveles elevados de IL-6 se han relacionado con la patogénesis de varias enfermedades inflamatorias como la periodontitis. Algunos estudios recientes también informan de que las bacterias *Lactobacillus* Gram-positivas, la causa de las lesiones de caries puede estimular la producción de IL-6 en la pulpa dental humana y en la de muchas especies veterinarias. (Argueta et al; 2012) Varios autores han descrito también una serie de enzimas que participan en procesos inflamatorios y del dolor. Dos de los más importantes son: el involucrado en el inicio del proceso y el otro en la reparación del tejido final, que son el aspartato fosfatasa aminotransferasa (AST) y alcalina. El primero es un citoplásmica enzima, y su presencia extracelular es un signo de necrosis celular. AST se aumenta considerablemente en las primeras etapas del proceso inflamatorio, y esto podría ser relacionados a necrosis temprana de la célula de la pulpa, mientras que su disminución observar en púlpitos irreversibles podría estar relacionado con un agotamiento o destrucción de esta enzima. *Spoto Giuseppe et al. (2001)* La disminución en la actividad de ALP en pulpitis irreversible podría estar relacionado con una masiva liberación de mediadores inflamatorios a partir de células inmunitarias, estos mediadores han sido demostrado que tienen un efecto inhibitor sobre la síntesis de ALP. *Spoto Giuseppe et al. (2001)* Para que se produzca la inflamación de las paredes de los vasos sanguíneos debe permitir la producción de la extravasación de esas sustancias esenciales para ese propósito. La relajación de la endotelio vascular está mediada por el óxido nítrico (NO), con el consiguiente aumento en la liberación de GMPc intracelular. Recientemente se ha demostrado en diferentes sistemas vasculares que para garantizar que la vasodilatación SP, GMPc y NO debe ser involucrado. Muchos mediadores inflamatorios en la pulpa dental como histamina, 5 - hidroxitriptamina, prostaglandinas, calcitonina de la bradiquinina, y sustancia P (SP) están liberada por las células y los nervios sensoriales en respuesta a estímulos diferentes, ya sea patológicos, farmacológicos y fisiológicos. La liberación de estos mediadores conduce a la dilatación de la arteriola fuga vascular y promover la restauración de la lesión sitio.

Por otra parte el radical libre llamado NO (óxido nítrico), desempeña un papel importante en el mantenimiento del flujo y la presión arterial. La nitróxido-sintetasa enzima (NOS) es responsable de la producción de NO endógeno; aminoácido L-arginina es un precursor en esta síntesis. El NO se activa ion calcio, el cual está disponible para la estimulación de células mediada por la acetilcolina, SP y BKI. *Karabucak Bekir (2005) Por último* Los canales de potasio (Kv) una subunidad de canal iónico regulado por voltaje (Kv 1,4), juega un papel importante en regulación de la excitabilidad neuronal. *Wells Jason E (2007)* Kv1.4 subunidades se encuentran en mielinizadas fibras sensitivas y también es el principal determinante de las fibras C excitabilidad. Hay una disminución significativa en la expresión de Kv1.4 en sintomático axones humanos pulpa en comparación con asintomáticos axones pulpa sana. Esto proporciona evidencia de que Kv1.4 puede contribuir a la hiperalgesia y la alodinia generación de pulpa. Y Los canales de sodio, propagan los potenciales de acción en las neuronas sensoriales depende la actividad de los canales de iones de sodio (Na⁺) regulados por voltaje. Na⁺ canales de aumentar la excitabilidad neuronal. Pulp inflamación induce alteraciones en las neuronas aferentes primarias, que provoca un aumento de la excitabilidad y por lo tanto participan en la presencia de hiperalgesia por favorecer la sensibilización central. (Argueta et al; 2012)

OTROS MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN E INDUCTORES NOCICEPTIVOS EN EQUINOS

Sistema del complemento

Consta aproximadamente de 20 proteínas solubles

- Existen varios grupos de componentes tempranos, que pertenecen a las vías clásica, alternativa y de las lectinas
- La vía alternativa y la vía de las lectinas pueden activarse directamente sobre la superficie de muchos microorganismos
- Los componentes tempranos de ambas vías actúan localmente activando C3
- La última consecuencia de la activación del complemento es el ensamblaje de los denominados componentes tardíos del complemento
- Forman grandes complejos proteicos, denominados complejos de ataque de membrana.
- Resultado de la activación: lisis directa del patógeno o su opsonización.
- Si el complemento no logra eliminar el patógeno:
 - **Su activación sostenida genera anafilotoxinas (C3a y C5a).**
 - **Se induce inflamación.**
 - **Aumenta el flujo de células y moléculas a la zona de infección.**

Este sistema está formado por unas 30 glucoproteínas y fragmentos que se encuentran en el suero y otros líquidos orgánicos de forma inactiva, y que al

activarse de forma secuencial, median una serie de reacciones con la finalidad de destruir la célula diana. El sistema se activa por tres vías diferentes.³

Vía clásica

Denominada así porque se descubrió primero. Su activación es iniciada por inmunocomplejos formados por IgG (Inmunoglobulina G) e IgM (Inmunoglobulina M). Esta vía se inicia con la unión de dos (en el caso de la participación de IgG) o más (en el caso de IgM) moléculas de inmunoglobulinas unidas a los antígenos respectivos al producirse cambios alostéricos en el extremo Fc.

C1q

Los fragmentos Fc de los anticuerpos así unidos a sus antígenos se unen a los brazos radiantes de la molécula C1q y activan el complejo C1qr. La unión a C1q de más de una porción Fc de la Ig es requerida para estabilizar el enlace con C1q. Este complejo poli-Fc:C1qrs a su vez causa proteólisis de los componentes C4 en C4a y C4b y a C2 en C2a y C2b. A tal punto es requerido esta multitud de porciones Fc de IgG o de IgM que si los antígenos originales están muy separados entre sí impidiendo la polimerización de la Ig participante, esta no es capaz de activar el complemento. Una vez el enlace poli-Fc:C1q es estable, se comunica el evento a las porciones C1r y C1s por medio de cambios que activan en C1r y a C1s actividades enzimáticas que continúan la cascada del complemento. C1 continuará su actividad enzimática degradando muchas moléculas de C4 hasta que es inactivado por su inhibidor. Las moléculas C1q no están asociadas al proceso de opsonización, dado que su función es ser la enzima que inicia la cascada clásica de coagulación.

C3 convertasa

C3a, C4a y C5a tienen funciones de anafatoxinas, favorecen la degranulación de células cebadas, liberando así Histamina, sustancia que favorece la inflamación. C4b se une de manera covalente a la membrana de la célula invasora o a un complejo inmune y a C2a en presencia de Mg^{++} , formando la C3 convertasa de la vía clásica, llamada C4b2a. La C3 convertasa tiene potente acción proteolítica sobre el factor C3, fragmentándola en C3a y C3b (C3a es también anafatoxina). La unión de C3b sobre la membrana en cuestión es un crítico elemento para el proceso de la opsonización por fagocitos.

C5 convertasa

C3b se une al complejo C4b2a, formando la convertasa C5 de la vía clásica conformada por C4b2a3b. Esta causará escisión de C5 en componentes a y b. Igual que con los anteriores, C5a es una anafatoxina que degranula a

los mastocitos y libera sus mediadores intracelulares y es también un factor quimiotáctico. El componente C5b se unirá a la membrana estabilizado por C6, en particular debido a la naturaleza hidrofóbica de C5b. C7 se inserta en la doble capa lipídica de la membrana unido al complejo C5bC6b estabilizando aún más la secuencia lítica en contra del invasor. Se fijan los demás factores C8 y Poli-C9 (este último contribuyendo de 12 a 15 unidades). Cuando los componentes se han unido se forma un poro cilíndrico en la célula que permite el paso de iones y agua, causando lisis celular por razón del desbalance osmótico. Este conjunto de proteínas que forman el poro se conocen como MAC: Membrane Attack Complex (Complejo de ataque a la membrana).

Vía alternativa

Filogenéticamente más primitiva, su activación fundamental no es iniciada por inmunoglobulinas, sino por polisacáridos y estructuras poliméricas similares (liposacáridos bacterianos, por ejemplo los producidos por bacilos gram negativos). Esta vía constituye un estado de activación permanente del componente C3 que genera C3b. En ausencia de microorganismos o antígenos extraños, la cantidad de C3b producida es inactivada por el Factor H. Cuando C3 se une a una superficie invasora (evade la acción del Factor H), forma un complejo con el Factor B, el cual se fragmenta por acción del factor D en presencia de Mq^{++} . El complejo C3bBb es altamente inestable y la vía alterna no continúa sin el rol estabilizador de una proteína circulante llamada properdina. Se forma de ese modo la C3 convertasa de la vía alterna (compuesta por C3bBb), la cual actúa enzimáticamente sobre moléculas adicionales de C3, amplificando la cascada. Incluso algo de este C3b se puede unir a la C3 convertasa y formar la C5 convertasa de la vía alterna (C3bBb3b) que activará a C6, convergiendo en los mismos pasos finales de la vía clásica.

Vía de las lectinas

Es una especie de variante de la ruta clásica, sin embargo se activa sin la necesidad de la presencia de anticuerpos. Se lleva a cabo la activación por medio de una MBP (manosa binding protein/proteína de unión a manosa) también llamada MBL, que detecta residuos de este azúcar en la superficie bacteriana, y activa al complejo C1qrs. De otra manera, una segunda esterasa, la esterasa asociada a MBP (denominada MASP, y de las cuales existen diferentes tipos: MASP-1, MASP-2, MASP-3 y MAP, siendo MASP-2 la más común) actúa sobre C4. El resto de la vía es similar a la clásica.

Estas vías producen una enzima con la misma especificidad: **C3**; y a partir de la activación de este componente siguen una secuencia terminal de activación común. El propósito de este sistema de complemento a través de sus tres vías es la destrucción de microorganismos, neutralización de ciertos virus y promover la respuesta inflamatoria, que facilite el acceso de células del

sistema inmune al sitio de la infección.

El sistema del complemento y su función en la pulpa dental del caballo

Lisis de células

El MAC (membrane attack complex/complejo de ataque a la membrana) puede lisar bacterias gram-negativas, parásitos, virus encapsulados, eritrocitos y células nucleadas.

Las bacterias gram-positivas son bastante resistentes a la acción del complemento.

Respuesta inflamatoria (más importante en relación al dolor pulpar equino)

Los pequeños fragmentos que resultan de la fragmentación de componentes del complemento, C3a, C4a y C5a, son llamados anafatoxinas. Estas se unen a receptores en células cebadas y basófilos. La interacción induce su degranulación, liberando histamina y otras sustancias farmacológicamente activas. Estas sustancias aumentan la permeabilidad y vasodilatación. Asimismo, C3a, C5a y C5b67 inducen monocitos y neutrófilos a adherirse al endotelio para iniciar su extravasación.

Opsonización

C3b es la opsonina principal del complemento. Los antígenos recubiertos con C3b se unen a receptores específicos en células fagocíticas, y así la fagocitosis es facilitada.

La neutralización de virus

C3b induce la agregación de partículas virales formando una capa gruesa que bloquea la fijación de los virus a la célula hospedera. Este agregado puede ser fagocitado mediante la interacción de receptores del complemento y C3b en células fagocíticas.

Eliminación de complejos inmunes

Los complejos inmunes (complejos antígeno-anticuerpo circulantes) pueden ser eliminados de la circulación si el complejo se une a C3b. Los eritrocitos tienen receptores del complemento que interactúan con los complejos inmunes cubiertos por C3b y los lleva al hígado y al bazo para su destrucción.

El óxido nítrico (NO) en la Nocicepción en el equino

Las investigaciones en el campo del dolor y de la analgesia se están

enfocando hacia los eventos celulares y moleculares subyacentes a los mecanismos de dolor crónico. En particular, mucha atención está recibiendo el óxido nítrico (ON), un nuevo tipo de neurotransmisor. El ON es un radical libre gaseoso e inestable que resulta de la oxidación de la L-arginina a L-citrulina en una reacción catalizada por la sintasa del óxido nítrico.

El ON cumple un papel de molécula citotóxica de macrófagos activados y de relajante de músculo liso. Además de estas funciones, el ON actúa como neuromodulador y/o neurotransmisor en el sistema nervioso.

Reportes recientes han comenzado a definir el papel del ON en los procesos nociceptivos a nivel de la médula espinal. Asociado a receptores sensibles al N-metil-D-aspartato (NMDA), parece estar involucrado en los mecanismos subyacentes de la hiperalgesia térmica, involucrado en la facilitación de reflejos térmicos. Es más, parece que la producción sostenida del ON y la subsecuente activación de la guanilato ciclasa soluble en la médula espinal lumbar, son condiciones requeridas para el mantenimiento de la hiperalgesia térmica producida en modelos de dolor persistente.

La inhibición de la sintasa del ON con nitro-L-arginina bloquea la tolerancia a la morfina en ratones. La nitro-L-arginina también es capaz de revertir lentamente tolerancia preexistente, además de reducir la dependencia y de revertir la dependencia a la droga previamente establecida. La acción del ON es selectivo para la tolerancia y dependencia a receptores del subtipo m.

El ON parece influenciar la liberación de neurotransmisores. Se ha observado que la inhibición de la sintetasa del ON con nitro-L-arginina inhibe la liberación de diversos neurotransmisores como el ácido aspártico, la acetilcolina y la dopamina.

El ON mismo parece ser un neurotransmisor que puede actuar en la misma neurona donde se produce o difundir hacia otras células adyacentes, células gliales o neuronas, para activarlas a través de un mecanismo GMPc dependiente.

El ON ha sido implicado en la plasticidad sináptica y potenciación a largo plazo (PLP). En el hipocampo, el ON ha sido implicado en la PLP como un mensajero retrógrado. En este sistema el ON es generado por la activación de un receptor postsináptico. Luego, por difusión, regresa rápidamente hacia la neurona presináptica para modular su excitabilidad y aumentar las conexiones sinápticas. Es en esta forma que se piensa puedan reforzarse las conexiones pre- y postsinápticas en el sistema nervioso central como consecuencia de su uso frecuente.

El receptor postsináptico activado durante la PLP es un receptor de ácido glutámico sensible a N-metil-D-aspartato (NMDA). Una vez activado este receptor, se permite la entrada de Ca^{+2} al interior de las neuronas excitadas.

Este aumento en Ca^{+2} intracelular desencadena una cascada de eventos que incluyen la activación de la sintasa del ON neuronal, lo que resulta en un aumento en la producción del ON. El ON regresa a la neurona presináptica, donde activa una ciclasa de guanilato soluble, que resulta en el incremento en los niveles de GMPc.

Después del aumento en los niveles de GMPc, no está claro lo que ocurre. Se sabe que el GMPc puede activar serina/treonina cinasas de proteínas dependientes de GMPc, activar canales de cationes dependientes de GMPc, así como fosfodiesterasas dependientes de GMPc. Es a través de una fosfodiesterasa de AMPc dependiente de GMPc, que se piensa que el ON participa en la regulación de vías de señalización dependientes de AMPc.

La formación excesiva de ON es tóxica a la célula y resulta en la fragmentación del ADN. El exceso de ON se puede producir cuando se activan receptores de glutámico sensibles a NMDA en presencia de un exceso de ácido glutámico. En estas condiciones también se aprecia un aumento en los niveles del radical superóxido, que con el ON forman peroxinitrito, otra molécula tóxica a la célula.

Gangliósidos reducen la neurotoxicidad del glutámico. Esto es debido a que los gangliósidos pueden formar complejos con calmodulina reduciendo así su disponibilidad para la activación de la sintasa del ON y con ello inhibiendo la formación de ON.

La ciclosporina A y el FK506, unidos a sus respectivas proteínas acarreadoras, inhiben a la calcineurina, una fosfatasa capaz de desfosforilar a la sintasa del ON. Dado que la forma activa de la sintasa del ON es la especie desfosforilada, la inhibición de la fosfatasa es un mecanismo de inhibición de la producción de ON.

El potencial del ON en la nocicepción, es en demasía importante ya que es un radical libre y sustancia algógena que mayor daño tisular produce, además de su acción como neuromodulador que se ha reportado por algunos investigadores en odontoanalgesia. (Argueta, 2012) Los estudios nos dicen: Uno de ellos involucra su papel en la hiperalgesia térmica y la otra su papel en el bloqueo de la tolerancia a la morfina.

La administración intratecal de NMDA produce una hiperalgesia térmica aguda, transitoria, de corta duración y dosis-dependiente, que puede bloquearse reversiblemente con AP5, un antagonista específico del receptor sensible a NMDA⁵. Esta hiperalgesia térmica puede ser inhibida con N-nitro L-arginina metil ester (L-NAME, un inhibidor de la sintasa del ON)⁶ y con azul de metileno (un inhibidor de la guanilato ciclasa soluble)⁵. Estos resultados sugieren que la hiperalgesia térmica producida por el NMDA, involucra, secuencialmente, la activación del receptor sensible a NMDA, la producción de

ON y finalmente un incremento en los niveles de GMPc. Un aumento en la producción de ON endógeno después de la administración intratecal de L-arginina, también resulta en un estado de hiperalgesia térmica, que muestra un curso temporal y una magnitud similar a la que se produce cuando se administra NMDA.

Además, parece que la producción sostenida del ON y la subsecuente activación de la guanilato ciclasa soluble en la médula espinal lumbar, son condiciones requeridas para el mantenimiento de la hiperalgesia térmica producida en modelos de dolor persistente.

Esta hiperalgesia térmica también puede inhibirse con hemoglobina, sugiriendo que una vez que se produce ON debe abandonar la célula en el que se produjo y viajar extracelularmente a otra célula para allí activar a la guanilato ciclasa donde, finalmente se produce el incremento en GMPc.

Las acciones de las sustancias opiáceas son moduladas por una red de neurotransmisores facilitatorios e inhibitorios. El uso crónico de analgésicos opiáceos invariablemente conduce a la tolerancia, aunque no parece haber una tolerancia cruzada entre los analgésicos tipo m, k1 y k3. Esto sugiere que los mecanismos analgésicos de estos tres subtipos son diferentes, y que mecanismos para bloquear la tolerancia a los opiáceos a su vez van a ocurrir a través de mecanismos diferentes.

La tolerancia a la morfina mediada por receptores pertenecientes al subtipo m involucra la activación de receptores sensibles a NMDA. Su inhibición con el antagonista MK 801 resulta en el bloqueo de la tolerancia a la morfina. La nitro-L-arginina dada en forma aguda o crónica no afecta las latencias basales y no influencia dosis únicas de morfina, pero previene el desarrollo de la tolerancia a la morfina a través de un mecanismo que no involucra la potenciación de la morfina, sino la tolerancia al opiáceo propiamente.

La nitro-L-arginina es capaz de revertir tolerancia a morfina ya establecida aunque en forma muy lenta, lo que indica que el proceso involucra pasos que van más allá de la inhibición de la sintasa del ON. Probablemente el ON regula cambios en sistemas adicionales. Estas acciones sobre la tolerancia están restringidas a la analgesia mediada por los subtipos m. Los subtipos k1 y k3 no se afectan por la presencia de la nitro-L-arginina.

La nitro-L-arginina también es capaz de reducir la dependencia a la morfina y de revertir la dependencia a la droga previamente establecida. Esta acción del ON también es selectiva para la dependencia a receptores del subtipo m.

CONCLUSIONES

La causa de los procesos inflamatorios pulpares es variada y su fase aguda es sinónimo de respuesta inmune inespecífica, la cual tiene origen vascular y

exudativo, con predominio de polimorfonucleares neutrófilos. En respuesta a esto es evidente el por qué de los procesos nociceptivos y la presentación de hiperalgesia y alodinia en las patologías pulpares, desgraciadamente el desconocimiento en fisiopatología del dolor pulpar, inflamación, mediadores químicos involucrados y respuesta inmune de la misma, hace del tratamiento del dolor en los procedimientos endodónticos un verdadero problema para los clínicos ya que los autores tras la extensa revisión de casos, literatura y experiencia personal corroboran las palabras encontradas en dicha investigación "el dolor de origen pulpar en todas las especialidades odontológicas es el más importante de controlar antes del tratamiento definitivo, lamentablemente el 90 % de los tratamientos fracasan y el paciente y propietario en el caso de pacientes veterinarios jamás regresan a consulta por la mala experiencia". Por otra parte los autores hacen referencia a la respuesta inflamatoria básicamente en: La respuesta inflamatoria aguda pulpar se identifican 3 fases esenciales las cuales se resumen en cambios hemodinámicos, alteración de la permeabilidad vascular y modificaciones leucocitarias, que tienen lugar en un tejido contenido dentro de una cavidad rígida e inextensible. Los extensos mediadores químicos constituyen los protagonistas por excelencia de todos los cambios morfofisiopatológicos que se suscitan en la inflamación aguda pulpar y que son definitivamente causante del dolor y pieza importante para el control del mismo y razonamiento lógico de que al carecer de información sobre de ellos se tengan fracasos en los tratamientos antinociceptivo, además del desconocimiento de la existencia de una estrecha relación entre las bases morfofisiopatológicas de la respuesta de dicho proceso inflamatorio y los estadios pulpares, los autores hacen notar que los odontólogos humanos y veterinarios en práctica no son los culpables en su fracaso con tan alto porcentaje (90%), si no el problema que hemos detectado tras 40 años de enseñanza, que en la mayoría de las facultades en especial en el estado de México, la enseñanza biomédica está totalmente desprotegida y el alumno no sale con los conocimientos biomédicos necesarios para entender estos mecanismos en los estudios de posgrado como lo es la especialización de endodoncia. Es por ello que los autores invitan a la reflexión a todos aquellos que estén involucrados en la enseñanza a la actualización y a los alumnos a exigir una educación biomédica competente y no dar toda la atención a lo técnico en humanos y zootécnico en pacientes veterinarios como los equinos, por que definitivamente existimos muchos médicos cirujanos y médicos veterinarios especialistas, en el estado de México que estamos lo suficientemente preparados para hacernos cargo del lado biomédico de esta extraordinaria licenciatura, pero que desgraciadamente son reemplazados por maestros sin competencia demostrada.

Regresando al lado fisiológicos, en el cuerpo humano el sistema inmune actúa en defensa del mismo ante agresiones del medio ambiente. En Endodoncia, ocurre lo mismo por parte del tejido pulpar y periapical ante diversos estímulos tales como térmicos, químicos, bacterianos y mecánicos. El tejido pulpar y sus constituyentes celulares reaccionan ante las agresiones con mecanismos de defensa. Se reconoce a la caries dental como el mayor agente

causal de la inflamación pulpar; las bacterias y sus componentes activan el sistema inmunológico. En principio, las inmunoglobulinas y el fluido dentinario presentes en los túbulos dentinarios, tratan de neutralizar estos microorganismos. Al aumentar la carga bacteriana se produce la liberación de polimorfonucleares neutrófilos y se inicia la inflamación pulpar que puede ceder dependiendo del estímulo o aumentar hasta producir la necrosis del tejido. En pulpas inflamadas aumentan considerablemente los niveles de neuropéptidos, lo cual intensifica el proceso inflamatorio, así como también de células inmunocompetentes (neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos, natural killer, mastocitos y células plasmáticas) que participan de una u otra manera en las respuestas inmunológicas. Este proceso dinámico inflamatorio e inmunológico puede alcanzar el forámen apical y producir una periodontitis apical con la consiguiente liberación de citocinas como la Interleucina 17 (IL-17), que ha demostrado ser protagonista en la activación de osteoclastos que causan la resorción ósea y la expansión de las lesiones periapicales. De igual manera se ha demostrado que en pulpas inflamadas puede haber reacciones de hipersensibilidad de tipo anafiláctica debido a la existencia de grandes cantidades de histamina e Inmunoglobulina E (IgE). Así mismo, métodos moleculares de PCR y TR-PCR se han usado satisfactoriamente para evidenciar la presencia de herpes virus en pulpitis irreversible y periodontitis apical. De allí la importancia del conocimiento del sistema inmune, tanto del tejido pulpar como de los tejidos periapicales y los procesos que se ven involucrados, en aras de lograr un diagnóstico certero y poder así aplicar tratamientos exitosos a largo plazo. Por lo tanto los autores y los colegas consultados enumeramos las siguientes e importantes conclusiones fisiológicas enfocadas al proceso nociceptivo pulpar en equinos y humanos:

1. La caries dental es el agente etiológico más importante y frecuente de la pulpitis y necrosis pulpar.
2. Los componentes de las bacterias presentes en la caries dental, como el ácido lipoteicoico y lipopolisacáridos, activan el sistema inmunológico de la pulpa provocando y manteniendo la inflamación e infección pulpar, mismos que activan nociceptores.
3. En pulpas inflamadas aumentan considerablemente los niveles de neuropéptidos, además de mediadores inflamatorios, los cuales intensifican el proceso inflamatorio de la pulpa.
4. Los linfocitos T-CD8 se encuentran en mayor proporción que los linfocitos T-CD4 en pulpas sanas, mientras que en pulpas inflamadas, esta relación cambia y se hacen más frecuentes los linfocitos T-CD4.

5. Los métodos de análisis ELISA, tinciones de inmunoperoxidasa y análisis de Northern Blot, han sido efectivos para determinar la presencia de interleucinas en pulpas inflamadas.
6. La IL-6 secretada cuando las células pulpares se encuentran en contacto con las bacterias Gram positivas, son fundamentales en la etapa tardía de la pulpitis, al aumentar el número de linfocitos B.
7. La IL-8 causa destrucción tisular al inducir la degranulación y liberación de enzimas por parte de los neutrófilos.
8. La IL-17, ha demostrado ser protagonista en la activación de osteoclastos y por ende en la expansión de lesiones periapicales.
9. Las células dendríticas y macrófagos participan en los estados tempranos de la pulpitis, mientras que las células B aumentan en la pulpitis irreversible.
10. En pulpas inflamadas, pueden ocurrir reacciones de hipersensibilidad de tipo anafiláctica, debido a la existencia de grandes cantidades de histamina e IgE asociadas a mastocitos en la pulpa.
11. Los métodos moleculares de PCR y TR-PCR se han usado satisfactoriamente para determinar la presencia de herpes virus en pulpitis y periodontitis apical
12. En pulpitis irreversible y periodontitis apical se ha demostrado la presencia de herpes virus específicamente virus de Epstein Barr, en mayor proporción.
13. La IL-2 forma parte de la principal respuesta inmune en la inflamación pulpar por su capacidad para estimular la proliferación de células T, activación de células NK y promover la función de células B para reconocer antígenos y producir anticuerpos.
14. El conocimiento de mecanismos inmunológicos en la pulpa, es fundamental para el diagnóstico de patologías pulpares y periapicales, para así realizar tratamientos efectivos y duraderos

BIBLIOGRAFÍA

1. Azuero-Holguín María Mercedes, Javier Caviedes-Bucheli, Hugo Roberto Muñoz and Esteban Ulate. Neuropeptides in Dental Pulp: The Silent Protagonists. JOE. Vol 34, Number 7, July 2008.
2. Bergenholtz G. Endodoncia: diagnóstico y tratamiento de la pulpa dental . Ed Manual Moderno. 2007
3. Bircher ME, et al. Fisiología Oral. UNR editora. 2009.
4. Bowles Walter R., John C. Withrow, Allen M. Lepinski, and Kenneth M. Hargreaves. Tissue Levels of Immunoreactive Substance P are Increased in Patients with Irreversible Pulpitis. JOE. Vol.29, No. 4, April 2003.
5. Chang MC, Chen YJ, Tai TF, et al. Cytokine-induced prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 expression in dental pulp cells: downstream calcium signalling via activation of prostaglandin EP receptor. Int Endod J 2006;39:819 –26.
6. Chang Yu-Chao, Shun-Fa Yang, Fu-Mei Huang, Chia-Ming Liu, Kuo-Wei Tai, and Yih-Shou Hsieh. Proinflammatory Cytokines Induce Cyclooxygenase-2 mRNA and Protein Expression in Human Pulp Cell Cultures. JOE. Vol. 29, No. 3, March 2003
7. Chao D, Bazy-Asaad A, Balboni G, Xia Y. delta-, but not mu-, opioid receptor stabilizes K(+) homeostasis by reducing Ca(2+) influx in the cortex during acute hypoxia. J Cell Physiol. 2007 Jul;212(1):60-7.
8. Cingolani H. y Houssay A. Fisiología humana de Houssay . Ed El Ateneo. 7º edición. 2008
9. Coon David, Ajay Gulati, Cameron Cowan and Jianing He. The Role of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Inflammatory Bone Resorption. JOE. Volume 33, Number 4, April 2007
10. Dionne RA, Lepinski AM, Gordon SM, et al. Analgesic effects of peripherally administered opioids in clinical models of acute and chronic inflammation. Clin Pharmacol Ther 2001;70:66 –73.
11. Dionne RA, Max MB, Gordon SM, et al. The substance P receptor antagonist CP-99,994 reduces acute postoperative pain. Clin Pharmacol Ther; 64:562–8. 1998
12. Gómez-Román JJ, JM Cifrián Martínez, S. Fernández Rozas, J. Fernando Val-Bernal. Expresión hormonal y de receptores opioides en pulmón fetal y del adulto. Arch Bronconeumol 2002;38(8):362-6.
13. Glazebrook PA, Ramirez AN, Schild JH, et al. Potassium channels Kv1.1, Kv1.2 and Kv1.6 influence excitability of rat visceral sensory neurons. J Physiol 2002; 541:467– 82.
14. Güven Günseli, Ceyhan Altun, Ömer Günhan, Taskin Gurbuz, Feridun Basak, Erman Akbulut and Zafer C. Cehreli. Co-Expression of Cyclooxygenase-2 and Vascular Endothelial Growth Factor in Inflamed Human Pulp: An Immunohistochemical Study. JOE. Vol 33, No 1, January 2007.
15. Hargreaves Kenneth M, Douglass L. Jackson, Walter R. Bowles. Adrenergic Regulation of Capsaicin-sensitive Neurons in Dental Pulp.

- JOE. Vol. 29, No. 6, June 2003.
16. Harrison Selena and Pierangelo Geppetti. Substance P. *Int J Biochem Cell Biol*; 33:555-76.05 2001
 17. He Jianing, Rosamond Tomlinson, David Coon, Ajay Gulati, and Cameron Cowan. Proinflammatory Cytokine Expression in Cyclooxygenase-2- deficient Primary Osteoblasts. *JOE*. Vol 33, No 11, November 2007
 18. Holt Claudia I, Max O. Hutchins and Roberta Pileggi. A Real Time Quantitative PCR Analysis and Correlation of COX-1 and COX-2 Enzymes in Inflamed dental Pulps Following Administration of Three Different NSAIDs. *JOE*. Vol 31, Number11, November 2005.
 19. Ingle J. *Endodoncia* . Ed. Mc Graw Hill. 5º ed. 2002
 20. Jaber L., WD Swaim, RA Dionne. Immunohistochemical Localization of μ -Opioid Receptors in Human Dental Pulp. *JOE*. Vol. 29, NO. 2, February 2003
 21. Jalil Modaresi, Omid Dianat and Abdollah Soluti. Effect of Pulp Inflammation on Nerve Impulse Quality with or without Anesthesia. *JOE*. Vol 34, No 4, April 2008.
 22. Johnsen DC, Harshbarger J, Rymer HD. Quantitative assessment of
 23. Johnsen DC. Innervation of teeth: quantitative, and developmental assessment. *J Dent Res*;64 (special issue):555-63. 1985
 24. Karabucak Bekir, Helmut Walsch, Yi-Tai Jou, Shlomoh Simchon and Syngcuk Kim. The Role of Endothelial Nitric Oxide in the Substance P Induced Vasodilation in Bovine Dental Pulp. *JOE*. Vol 31, No 10, October De 2005.
 25. Karapanou Virginia, Duraisamy Kempuraj and Theoharis C. Theoharides. Interleukin-8 Is Increased in Gingival Crevicular Fluid from Patients with Acute Pulpitis. *JOE*. Vol 34, No 2, February 2008
 26. Khan Asma A., Xiaoling Sun and Kenneth M. Hargreaves. Effect of Calcium Hydroxide on Proinflammatory Cytokines and Neuropeptides. *JOE*. Vol 34, No 11, November 2008.
 27. Iliana Eli, Yoram Bar-Tal, Zvi Fuss, and Alon Silberg. Effect of Intended Treatment on Anxiety and on Reaction to Electric Pulp Stimulation in Dental Patients. *JOE*. Vol. 23, No. 11, November 1997.
 28. Leffingwell Clifford S., Trudy A. Meinberg, Joshua G. Wagner, Gound Tom G., David B. Marx and Richard A. Reinhardt. Pulp Responses to Precise Thermal Stimuli in Dentin-Sensitive Teeth. *JOE*. VOL.30, NO. 6, JUNE De 2004.
 29. Lepinski Allen M., Kenneth M. Hargreaves, Harold E. Goodis and Walter R. Bowles. Bradykinin Levels in Dental Pulp by Microdialysis. *JOE*. Vol. 26, No. 12; 744-747. December 2000.
 30. Lin Sze-Kwan, Mark Yen-Ping Kuo, Juo-Song Wang, Jih-Jong Lee, Chih-hiang Wang, Shen Huang, Chia-Tung Shun and Chi-Yuan Hong. Differential Regulation of Interleukin-6 and Inducible Cyclooxygenase Gene Expression by Cytokines Through Prostaglandin-Dependent and -Independent Mechanisms in Human Dental Pulp Fibroblasts. *JOE*. Vol. 28, No. 3, March 2002

31. Liu L, Simon SA. Modulation of IA currents by capsaicin in rat trigeminal ganglion neurons. *J Neurophysiol* 2003; 89:1387–1401.
32. Matsushima K, Ohbayashi E, Takeuchi H, Hosoya S, Abiko Y, Yamazaki M. Stimulation of interleukin-6 production in human dental pulp cells by peptidoglycans from *Lactobacillus casei*. *J Endodon* 1998;24:252–5.
33. Mian Iqbal, Sara Kim and Frank Yoon. An Investigation Into Differential Diagnosis of Pulp and Periapical Pain: A PennEndo Database Study. *JOE*. Vol 33, No 5, May 2007.
34. Nakanishi Tadashi, Hirotoishi Shimizu, Yoshitaka Hosokawa and Takashi Matsuo. An Immunohistological Study on Cyclooxygenase-2 in Human Dental Pulp. *JOE*. Vol. 27, No. 6, June 2001
35. Narhi M. Functional characteristics of sensory nerve fibers of the pulp. Dentin sensitivity. Una revisión. *JB Buccale*,13:75-96 1985
36. Nup Caroline, Paul Rosenberg, Harald Linke, Patricia Tordik. Quantitation of Catecholamines in Inflamed Human Dental Pulp by High-Performance Liquid Chromatography. *JOE*. Vol.27, No. 2, February 2001
37. Ricarte José Martínez, Vicente Faus Matoses, Vicente José Faus Llácer, Antonio Juan Flichy Fernández, Bibiana Mateos Moreno Dentinal sensitivity: Concept and methodology for its objective evaluation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2008 Mar1;13(3):E201-6.
38. Rie Miyamoto, Masayuki Tokuda, Tetsuya Sakuta, Shigetaka Nagaoka and Mitsuo Torii. Expression and Characterization of Vanilloid Receptor Subtype 1 in Human Dental Pulp Cell Cultures. *JOE*. Vol 31, No 9, Septiembre de 2005.
39. Rutz J. Carson, John F. Hatton, Charles Hildebolt, Jason E. Wells, and Kevin C. Rowland. Localized Increases in Corticotropin-releasing Factor Receptors in Pulp after Dental Injury. *JOE — Volume 33, Number 11, 11 2007*
40. Shimauchi Hidetoshi, Shin-ichi Takayama, Makiko Narikawa-Kiji, Yoshio Shimabukuro and Hiroshi Okada. Production of Interleukin-8 and Nitric Oxide in Human Periapical Lesions. *JOE*. Vol. 27, No. 12. Diciembre 2001.
41. Silverthorn Dee U. Fisiología humana, un enfoque integrado. Médica Panamericana. 4º edición. Bs As. 2008.
42. Spoto Giuseppe, Massimiliano Fioroni, Corrado Rubini, Domenico Tripodi, Giuseppe Perinetti and Adriano Piattelli. Aspartate Aminotransferase Activity in Human Healthy and Inflamed Dental Pulps. *JOE*. Vol. 27, No. 6, June 2001.
43. Spoto Giuseppe, Massimiliano Fioroni, Corrado Rubini, Domenico Tripodi, Mauro Di Stilio and Adriano Piattelli. Alkaline Phosphatase Activity in Normal and Inflamed Dental Pulps. *JOE*. Vol.27, No. 3, March 2001.
44. Trowbridge Henry O. Intradental Sensory Units: Physiological and Clinical Aspects. *Journal Of Endodontics*. Vol. 11, No. 11, November 1985.
45. Trowbridge Henry O. Review of Dental Pain Histology and Physiology. *Journal Of Endodontics*. Vol 12, No 10, October 1986.

46. Tulay Yucel-lindberg, Arri Ahola, Jan Carlstedt-duke and Thomas Modeer Induction of cytosolic phospholipase a2 mrna expression by interleukin-1b and tumor necrosis factor a in human gingival fibroblastos. 10360-3997/00/0600-0207 18.00/0 □ 2000 Plenum Publishing Corporation.
47. Warren Curt A., LeePeng Mok, Sharon Gordon, Ashraf F. Fouad and Michael S. Gold . Quantification of Neural Protein in Extirpated Tooth Pulp. JOE.Vol 34; Issue 1; January 2008.
48. Wells Jason E. Kv1.4 Subunit Expression is Decreased in Neurons of Painful Human Pulp. JOEVol 33, No 7, 07 2007
49. Wells Jason E., Val Bingham, Kevin C. Rowland and John Hatton. Expression of Nav1.9 Channels in Human Dental Pulp and Trigeminal Ganglion. JOE. Vol 33, No 10, October 2007.
50. Wurm Cathy, Jennelle Durnett Richardson, Walter Bowles and Kenneth M. Hargreaves.Evaluación de los Functional GABA, Receptors in Dental Pulp. JOE. VOL. 27, No. 10, October 2001.
51. Yun Sook Kim, Young Jae Kim, Sang Kyoo Paik, Yi Sul Cho, Tae Geon Kwon, Dong Kuk Ahn, Sung Kyo Kim, Atsushi Yoshida and Yong Chul Bae. Expression of Metabotropic Glutamate Receptor mGluR5 in Human Dental Pulp. JOE. Vol 35, No 5, May 2009