

Bedoya MA, Rodríguez LS, Jaramillo LM, Moreno GC. El efecto de la capsaicina sobre fibroblastos pulpaes humanos en la producción de PGE₂ y citoquinas proinflamatorias está asociado al etanol. Univ Odontol. 2016 Ene-Jun; 35(74). <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo35-74.ecfp>

SECCIÓN: Ciencias básicas, biotecnología y bioinformática
TITULILLO: Capsaicina-etanol PGE₂ y citoquinas

El efecto de la capsaicina en fibroblastos pulpaes humanos en la producción de PGE₂ y citoquinas proinflamatorias está asociado al etanol

The Effect of Capsaicine in Human Pulp Fibroblasts, in the Production of PGE₂ and Proinflammatory Cytokines is associated with Ethanol

María Alexandra Bedoya Mejía

Odontóloga, Especialista en Endodoncia, Maestría en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana. Centro de Investigaciones Odontológicas, Docente Instructor, Facultad de Odontología, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Luz Stella Rodríguez Camacho

Química, Maestría en Bioquímica Universidad Nacional de Colombia. Doctorado en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana. Docente Asistente, Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Bogotá, Colombia

Lorenza María Jaramillo Gómez

Ingeniera Química, Universidad de Manizales. Magistra en Ciencias, Doctora en Biología, Pontificia Universidad Javeriana. Centro de Investigaciones Odontológicas, Docente Asociado, Facultad de Odontología, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

Gloria Cristina Moreno Abello

Odontóloga, Maestría en Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana. Centro de Investigaciones Odontológicas, Docente Asociada, Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Bedoya MA, Rodríguez LS, Jaramillo LM, Moreno GC. El efecto de la capsaicina sobre fibroblastos pulpaes humanos en la producción de PGE2 y citoquinas proinflamatorias está asociado al etanol. Univ Odontol. 2016 Ene-Jun; 35(74).
<http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo35-74.ecfp>

Recibido para publicación: 21/04/2016

Aceptado para publicación: 25/06/2016

Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/universitasodontologica>

RESUMEN

Antecedentes: la capsaicina por su efecto en el control de diferentes mediadores de la inflamación, ha sido propuesta como modulador de los procesos inflamatorios que sufre el tejido pulpar ante diferentes tipos de agresiones. **Objetivo:** evaluar el efecto de la capsaicina diluida en etanol 0,05 % y su vehículo sobre la producción de PGE₂, IL-8, IL-6, IL-1β, e IL-12p70 en fibroblastos pulpares humanos (FPH). **Métodos:** las concentraciones de PGE₂, IL-8, IL-6, IL-1β, e IL-12p70 fueron analizadas por ELISA o citometría de flujo en sobrenadantes de FPH a las 6 y 8 horas, después de ser estimulados con capsaicina 5*10⁻⁵ M y 2,5*10⁻⁵ M o etanol 0,05 % (vehículo de la capsaicina), comparándolas con células sin estímulo. **Resultados:** el etanol al 0,05 % como diluyente de la capsaicina es el responsable de la disminución en la expresión de la PGE₂, la IL-8 y la IL-6 a los tiempos y concentraciones evaluadas. La IL-12p-70 fue la única citoquina medida, que aumentó significativamente en presencia de capsaicina 2,5*10⁻⁵ M a las 8 horas, siendo ésta estadísticamente mayor que el etanol 0,05 %. Ni la capsaicina, ni el etanol tuvieron efecto significativo sobre la IL-1β. **Conclusión:** el efecto de la capsaicina sobre FPH, está asociado al etanol 0,05 % utilizado como diluyente y varía dependiendo del tiempo y del mediador analizado.

PALABRAS CLAVE

capsaicina; endodoncia; etanol; fibroblastos; interleuquinas; prostaglandina E; pulpa dental

AREAS TEMÁTICAS

endodoncia; enfermedades pulpares; pulpa dental

ABSTRACT

Background: due of capsaicin effect on the control of various inflammatory mediators, it has been proposed to modulate inflammatory processes caused by physical assaults to pulp tissue. **Purpose:** to evaluate the effect of capsaicin diluted in 0.05 % ethanol and its vehicle on PGE₂ production, IL-8, IL-6, IL-1 β , and IL-12p70 in Human Fibroblasts Pulp (FPH). **Methods:** concentrations of PGE₂, IL-8, IL-6, IL-1 β , and IL-12p70 were analyzed by ELISA or flow cytometry in supernatants of FPH at 6 and 8 hours, after being stimulated with capsaicin 5*10⁻⁵ M and 2,5*10⁻⁵ M and ethanol 0.05% vehicle of capsaicin and compared with unstimulated cells. **Results:** ethanol 0.05% as a diluent capsaicin, is responsible for the effect on the decrease in the expression of PGE₂, IL-8 and IL-6 at the times and concentrations evaluated; and IL-12p-70 was the only cytokine that increased significantly in the presence of capsaicin 2,5*10⁻⁵ M at 8h, it is statistically greater than ethanol 0.05%. Capsaicin and ethanol had not significant effect on IL-1 β . **Conclusion:** the effect of capsaicin on FPH, is associated with ethanol 0.05% used as diluent and varies depending on time and the mediator analyzed.

KEYWORDS

capsaicine; dental pulp; ethanol; endodontics; fibroblast; interleukins; prostaglandin E

THEMATIC FIELDS

endodontics; dental pulp; dental pulp disease

INTRODUCCIÓN

El tejido pulpar es agredido durante la elaboración de preparaciones para la colocación de restauraciones, generando una respuesta inflamatoria que atrae a la zona leucocitos y mediadores inflamatorios que favorecen la reparación del tejido (1). Sin embargo, al estar confinado en una cámara rígida de dentina y por las características de su irrigación sanguínea y linfática, el proceso inflamatorio pulpar se hace difícil de controlar, por lo que es común que se desarrollen procesos inflamatorios irreversibles que en ocasiones terminan en la necrosis del tejido. A nivel del tejido pulpar inflamado se han identificado mediadores como la PGE₂ y citoquinas proinflamatorias como IL-8, IL-6, IL-1 β e IL-12p70 (2, 3). En la búsqueda de una herramienta farmacológica de aplicación tópica para la modulación del proceso inflamatorio pulpar ésta investigación considera a la capsaicina como una alternativa que puede favorecer la disminución de la concentración de mediadores proinflamatorios y mantener la vitalidad del tejido pulpar.

La capsaicina es derivada de la planta del género *Capsicum* y es el principal componente del ají; se considera un agente farmacológico efectivo en el control del dolor y la inflamación en enfermedades como la artritis reumatoidea y la osteoartritis, porque controla la liberación de neuropéptidos.(4). La sensibilidad a la capsaicina de ciertas neuronas aferentes, es debida a la selectividad que presenta este compuesto por un sitio de reconocimiento específico que está unido a canales catiónicos de la membrana celular, conocidos como receptores para Vanilloides subtipo1 (VR1, TRPV1) (5).

Existe evidencia de la presencia de receptores para la capsaicina en tipos celulares diferentes a las neuronas. Algunos estudios han mostrado la acción directa de este vanilloide sobre queratinocitos (6), células epiteliales, fibroblastos de piel, cardiomiocitos (7) y sinoviocitos (8). Los efectos *In Vitro* de la capsaicina, sobre sinoviocitos, muestran una acción directa sobre proliferación en concentraciones de 10^{-6} M, síntesis de DNA en concentraciones de 10^{-8} M, síntesis de colagenasa en ambas concentraciones y aumento de la síntesis de PG en concentraciones de 10^{-8} M (9). El TRPV1 epidermal activado por la capsaicina induce mediadores pro inflamatorios como COX-2, IL-8, PGE₂ en piel (10). En células epiteliales bronquiales humanas, la capsaicina estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias como la IL-8 después de 4h, a través de la activación del receptor TRPV1(11).

Miyamoto y colaboradores (12), reportaron la expresión del receptor vanilloide subtipo 1 (VR1,TRPV1) en fibroblastos de pulpa dental, utilizando RT-PCR, Western blot, y análisis de inmunohistoquímica demostrando que la capsaicina 10^{-4} M indujo la expresión de la IL-6 y su expresión se relacionó con la activación del receptor TPRV1. La capsaicina también ha sido estudiada en fibroblastos pulpares donde se encontró que en concentraciones de 10^{-4} M y 10^{-8} M, induce la proliferación celular y aumenta el número de células en fase de síntesis (13).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la capsaicina diluida en etanol y del etanol al 0.05% sobre la producción de PGE₂, IL-8, IL-1 β , IL-6, e IL-12p70 en fibroblastos pulpares humanos (FPH).

MATERIALES Y METODOS

Recolección de muestras y estimulación celular

El proyecto fue aprobado por el comité de Ética e Investigación de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana. El tejido pulpar se obtuvo de terceros molares de donantes jóvenes, previo diligenciamiento del consentimiento informado. Los dientes estaban sanos, con formación radicular completa verificada clínica y radiográficamente. El tejido fue cortado en pequeñas piezas que fueron expuestas a dispa (2 unidades/ml) durante 20 minutos. Los explantes fueron sembrados en frascos de cultivo añadiendo 6 mL de D-MEM (Sigma D7777), suplementado con SFB (GIBCO 16000036) al 10%, Penicilina-Estreptomicina 1 % (GIBCO 15140-163) y Anfotericina 0,1 % (Sigma A2942), incubados a 37°C con 5 % CO₂. Para el desprendimiento celular se utilizó tripsina (GIBCO 15050065) al 0.25% y EDTA 1mM.

Se trabajó con FPH en quinto pase. Se realizaron 2 montajes por triplicado para cada prueba. (n=6), sobre 50.000 células por pozo, según estandarizaciones previas. (13) La capsaicina (Sigma M2028) se diluyó en etanol (Merck CHEM 10990) y se obtuvo una solución Stock. Se obtuvieron concentraciones de capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M en medio completo. Los controles incluyeron células sin estímulo y estimuladas con etanol 0,05 % como vehículo de la capsaicina. Las mediciones de todos los mediadores de la inflamación analizados se realizaron sobre el sobrenadante obtenido a las 6 y 8 horas.

Producción de PGE₂

Las concentraciones de PGE₂ se midieron en los sobrenadantes de los cultivos por la técnica de ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante, utilizando el kit de PGE₂, High Sensitivity R&D Systems (Ref KGE004).

El límite de sensibilidad de detección fue de 10,1 pg/ml. Las lecturas se hicieron a una longitud de onda de 450 nm en el lector de ELISA. Los datos se reportan en pg/mL

Producción de IL-8, IL-1 β , IL-6, e IL-12p70

Las concentraciones de IL-8, IL-6, IL-1 β e IL-12p70, se midieron en los sobrenadantes de los cultivos mediante el kit de inflamación humana Cytometric Bead Array (CBA) de Beckton Dickinson (Ref. 551811) siguiendo el protocolo del fabricante. Las lecturas se hicieron en el citómetro de flujo FACS ARIA (BD), y se utilizó el software FCAP array para su análisis. Los límites de detección para cada citoquina fueron: IL-8:3,6 pg/ml, IL-1 β : 7,2 pg/ml, IL-6 2,5 pg/ml, IL12p70:1,9 pg/ml.

Análisis Estadístico

Los resultados de las concentraciones de PGE₂, IL-8, IL-6, IL-1 β , e IL-12p70 son presentados utilizando medianas y rangos. Para el análisis se utilizó el programa GraphPad PRISM. La comparación entre grupos se realizó con las pruebas de Kruskal Wallis. Y como post-hoc se utilizó la prueba U de Mann Whitney. Se consideraron diferencias significativas con $p < 0,05$.

RESULTADOS

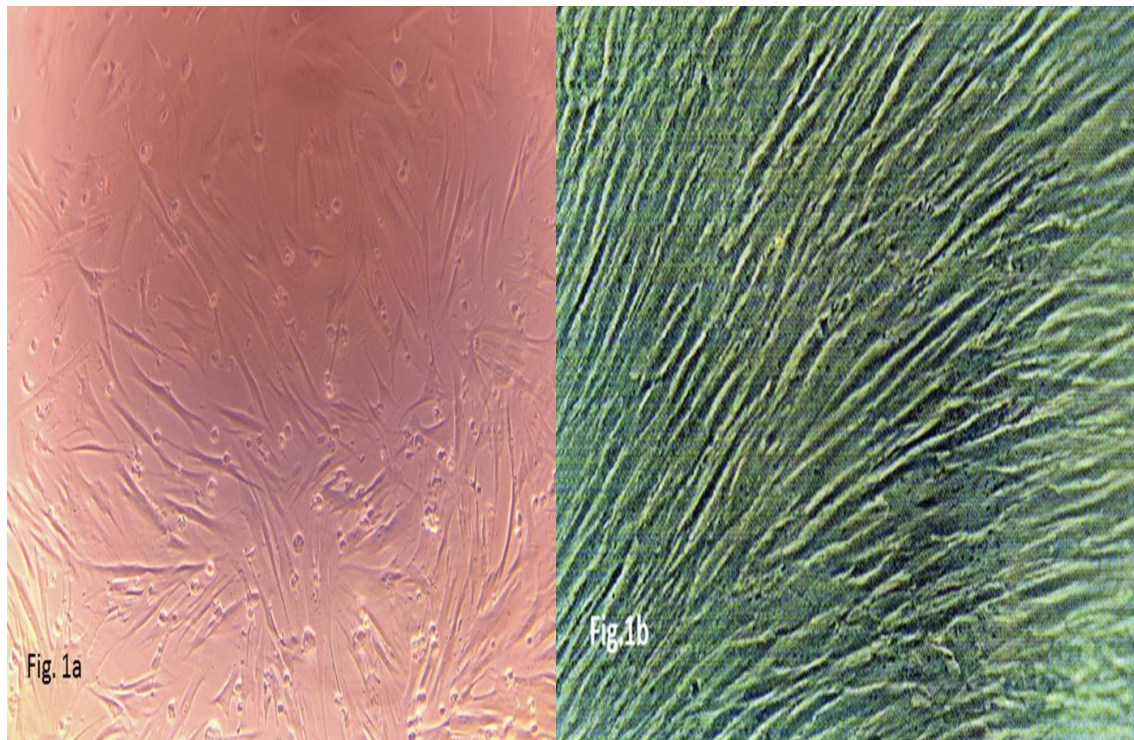
Obtención de fibroblastos a partir de explantes de tejido de pulpa dental humana

Con el fin de evaluar la producción de PGE₂, IL-8, IL-6, IL-1 β e IL-12p70 en FPH estimulados con capsaicina a diferentes dosis, fue necesaria la obtención de fibroblastos a partir de explantes de tejido de pulpa dental (Figura 1). En quinto pase la totalidad de las células presentaban las características morfológicas de los FPH. Eran células elongadas, que confluían formando las conglomeraciones en roseta.

FIGURA 1

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE FIBROBLASTOS PULPARES HUMANOS

- a. Morfología de fibroblastos pulpares humanos (FPH) obtenidos a través de explantes de pulpa dental. b. Monocapa confluyente de FPH a los 45 días de cultivo

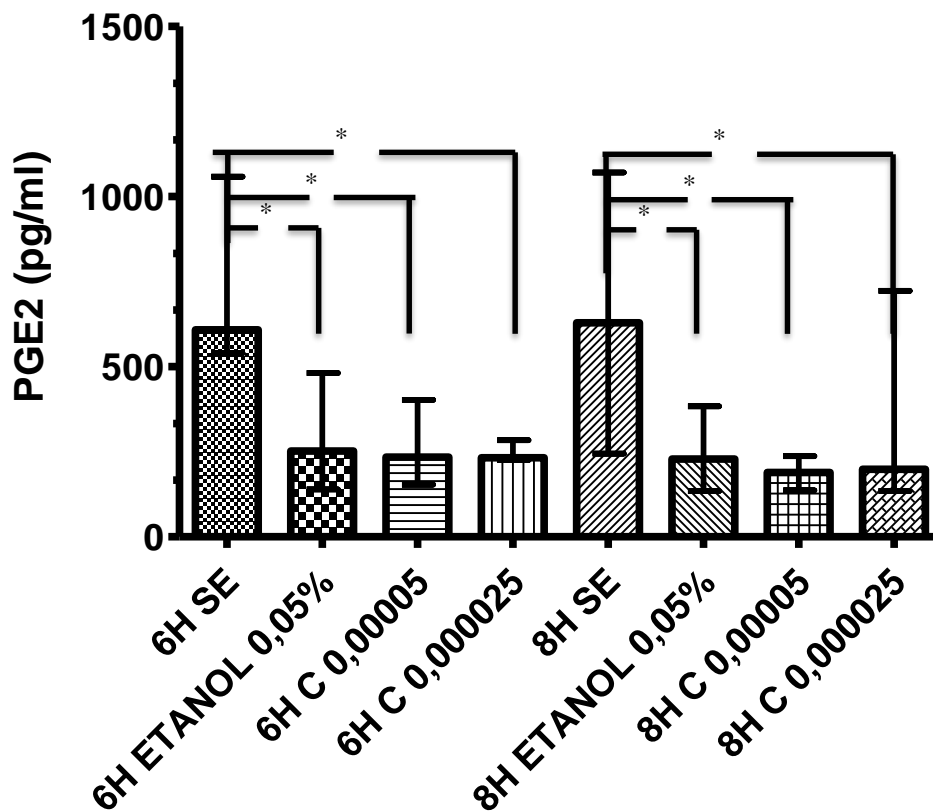


Efecto de la capsaicina diluida en etanol sobre la producción de PGE₂ en sobrenadantes de FPH

Para establecer si la capsaicina diluida en etanol 0,05 % tiene un efecto en la disminución de la producción de PGE₂ en FPH, se realizaron experimentos previos (datos no mostrados) para determinar la concentración y tiempo óptimo de su utilización, descartando el uso de capsaicina $1 \cdot 10^{-4}$ M por cuanto no se observó disminución de PGE₂, a las 6 y 8 horas, contrario a lo sucedido con la capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y la capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M en donde se observó una disminución de la producción de PGE₂, en comparación con células sin estímulo. En cuanto al tiempo óptimo, se observó que a la primera hora y a las 12 horas se detectaron niveles altos de producción de PGE₂ en relación a las células sin estímulo (datos no mostrados).

El efecto de la capsaicina diluida en etanol sobre FPH en la producción de PGE₂, dependiendo de la concentración y del tiempo, se muestran en la (Figura 2). Se observó una disminución estadísticamente significativa de PGE₂ (6 y 8 h) asociada al etanol 0,05 %, a la capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y a la capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M $p < 0.05$, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambas concentraciones y el etanol 0,05 %. Estos resultados muestran que el efecto de la capsaicina diluida en etanol está asociado al vehículo.

FIGURA 2
PRODUCCIÓN DE PGE₂ EN SOBRENADANTES DE FPH, ESTIMULADOS CON CAPSAICINA A LA 6H Y 8H



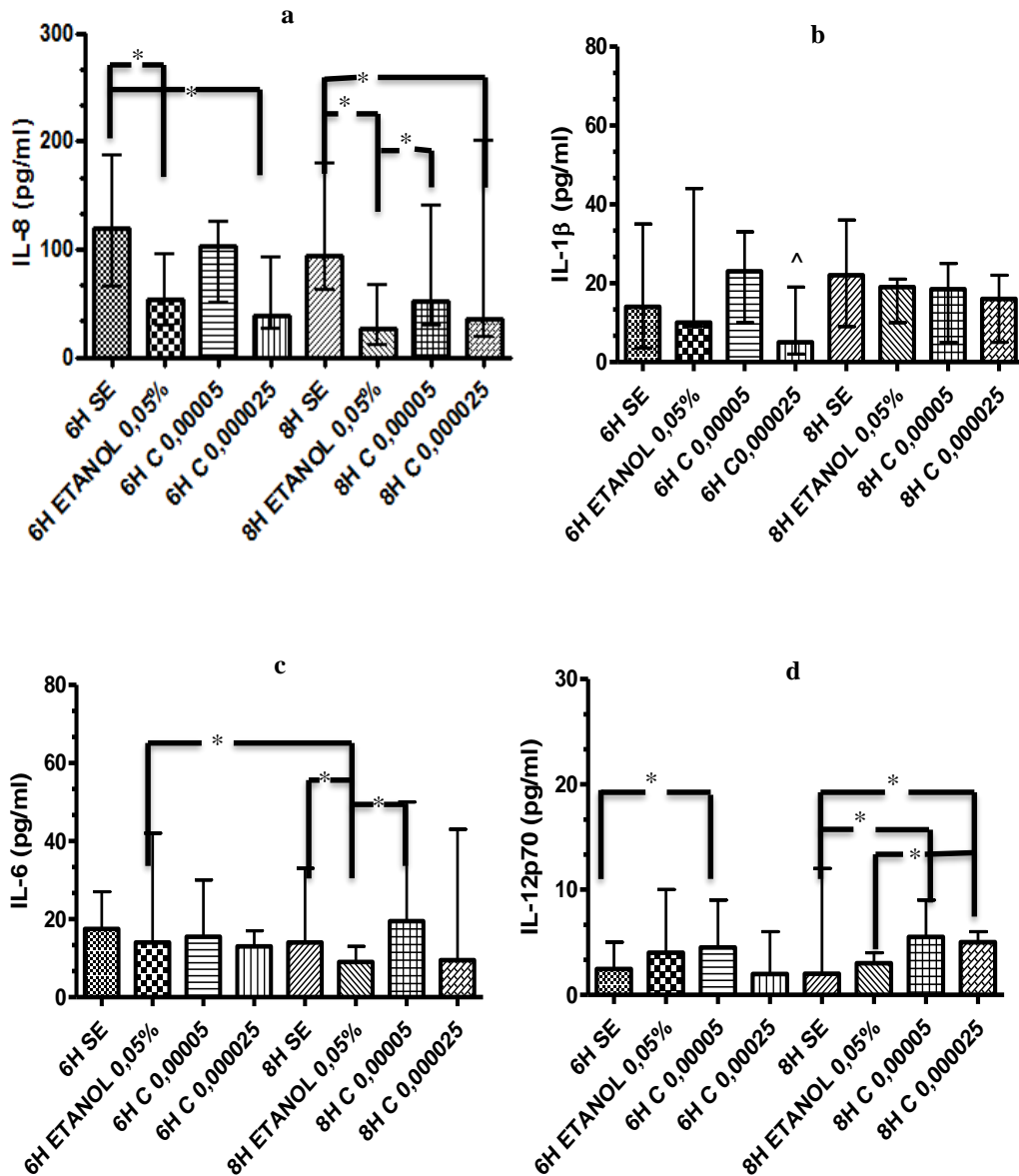
Se presentan medianas y rangos de la concentración de PGE2 en pg/ml para cada condición experimental. SE Sin estímulo; C 0,00005 = Capsaicina $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$; C 0,000025 = Capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5} \text{M}$; Etanol 0,05 % (control).

Representa las diferencias estadísticas significativas entre los grupos. $p < 0,05$ %.

Efecto de la capsaicina sobre la producción de IL-8, IL-1 β , IL-6, e IL-12p70 en sobrenadantes de FPH

Con el fin de establecer si la capsaicina diluida en etanol tiene un efecto de disminución en la producción de IL-8, IL-1 β , IL-6, e IL-12p70 en sobrenadantes de FPH; se tomaron muestras de sobrenadantes de FPH, estimulados con capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M, a las 6 y 8 horas. La producción de IL-8 dependiente de la concentración de capsaicina y del tiempo, se muestran en la figura 3a. Se observó una disminución estadísticamente significativa de la IL-8 con etanol 0,05 % y con capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M (6 y 8 h). Nuevamente el efecto de la capsaicina en la menor concentración se asoció al vehículo. Por otro lado, la capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M tiene un comportamiento equivalente en la producción de IL-8 en relación con las células SE, pero fue estadísticamente superior al compararla con etanol 0,05 %. La producción de IL-1 β dependiente de la concentración de capsaicina y del tiempo, se muestran en la figura 3b. Se observa una ligera tendencia a aumentar la IL-1 β en presencia de la capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y del etanol 0,05 % a las 6h. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la capsaicina y su vehículo a las 6 y 8h $p > 0,05$. La producción de IL-6 dependiente de la concentración de capsaicina y tiempo, se muestra en la figura 3c. Se observó disminución significativa de la IL-6 en el grupo estimulado por etanol 0,05 % a las 8h, en relación con las células SE y las estimuladas con capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M, $p < 0,05$. No se encuentran efectos significativos de la capsaicina ni de su vehículo a las 6h. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la producción de IL-6 causada por el etanol 0,05 % entre las 6 y 8 horas $p = 0,0079$.

FIGURA 3
PRODUCCIÓN DE IL-8 (FIG. 3A), IL-1B (FIG. 3B), IL-6 (FIG. 3C), IL-12P70 (FIG. 3D), EN SOBRENADANTES DE FPH,
ESTIMULADOS CON CAPSAICINA A LAS 6 Y 8 HORAS



Se presentan medianas y rangos para cada citoquina según la condición experimental. SE=S

In estímulo. C 0,00005 = Capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M, C 0,000025 = Capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M. Etanol 0,05 % (Control). *Representa las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. $p=0,05$.

Prueba U de Mann Withney. (^) = representa mediana bajo los límites de sensibilidad.

La producción de IL-12p70 dependiente de la concentración de capsaicina y del tiempo, se muestran en la figura 3d. A las 6 horas se observó un aumento significativo en la producción de IL-12p70, en presencia de capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M $p < 0,05$, a las 8 horas, también se observó un aumento estadísticamente significativo de la citoquina en presencia de capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M, comparándolas con las muestras sin estímulo, $p = 0,05$ y $p = 0,03$. Las muestras estimuladas con capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M a las 8 horas aumentan significativamente la concentración de la IL-12p70 en relación con el etanol $p = 0,009$ a las 8 horas.

DISCUSION

La capsaicina disminuye el dolor y los procesos inflamatorios en pacientes con neuralgia post herpética, osteoartritis, neuropatía diabética y artritis reumatoide (14). La capsaicina actúa sobre neuronas y diferentes tipos celulares en la proliferación celular y en la expresión de citoquinas proinflamatorias (15, 16). En FPH la capsaicina favorece la proliferación celular (13) y produce un aumento en la expresión de IL-6 (12). En esta investigación, al evaluar el efecto de la capsaicina diluida en etanol 0,05 % sobre FPH, como un fármaco que potencialmente pueda controlar la inflamación pulpar, se encontró, que aunque la capsaicina $5 \cdot 10^{-5}$ M y $2,5 \cdot 10^{-5}$ M tiende a disminuir la producción de PGE_2 a las 6 y 8h, es el etanol 0,05 %, el que genera el efecto de disminución y aunque la capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M tiende a disminuir la producción de IL-8, IL-6 e IL-1 β a las 6 y 8 horas, es también el etanol 0,05 % el que genera el efecto de disminución. Existen otros solventes de la capsaicina como el cloroformo, el éter y el benceno que no pueden ser usados clínicamente por su toxicidad (17), por esta razón el alcohol etílico es el más utilizado como diluyente en las investigaciones en el área biológica. El etanol tiene la capacidad de activar

neuronas primarias sensoriales, cuando se utiliza en concentraciones de 0.1-3 % sobre tejido de esófago, piel y médula espinal dorsal, produciendo la liberación de neuropéptidos y extravasación de plasma (18), además de activar la expresión del receptor de potencial transitorio vanilloide subtipo 1 (TRPV1) (5). El TRPV1 es un canal catiónico no selectivo expresado en neuronas sensoriales primarias nociceptivas de fibras nerviosas tipo A delta y tipo C, se activa por estímulos de calor, pH extracelular bajo, gran variedad de lípidos incluyendo anandamida, dopamina y algunos ecosanoides (5). La acción excitatoria del etanol sobre el TRPV1 se debe principalmente a su habilidad para disminuir el rango de temperatura de activación del canal (19). También se ha comprobado que el etanol potencializa la activación del TRPV1 por protones y lípidos como la anandamida (18). En una concentración del 0,001 %, el etanol generó la activación del TRPV1 aumentando el flujo de calcio intracelular sobre una línea celular (HEK293), compartiendo la vía que modula el *fosfatidil inositol* PIP₂ (19). En neuronas sensitivas de mucosa gástrica, se demostró que el etanol activa el TRPV1 liberando sustancia P (20). Hay pocos estudios que muestran el efecto del etanol como diluyente de la capsaicina sobre diferentes tipos celulares, el antecedente más cercano en FPH, muestra que el etanol al 0.05 % tiene un efecto sobre la proliferación de estas células, pero este efecto nunca supera la acción de la capsaicina (13).

Es importante analizar que en varios estudio (12,21,22) donde se evalúa la producción de citoquinas en diferentes tipos celulares estimulados con capsaicina, no se describe el diluyente ni el efecto que este pudiera tener. Miyamoto y colaboradores (12) reportaron una expresión aumentada de IL-6 en cultivos de FPH estimulados con capsaicina 10⁻⁴ M y capsazepina 30 uM (antagonista del receptor TRPV1) después de 12 horas, en la presente investigación el aumento de la IL-6 solo se produjo como efecto del estímulo del diluyente. En células epiteliales gástricas

infectadas con *H. pylory* y estimuladas con capsaicina 10 μ M, se reportó que disminuye la liberación de IL-8 a las 24 h, pero tampoco se describe el efecto que puede tener el diluyente como control (21). Otro estudio que evaluó el efecto de capsaicina 100 μ M diluida en etanol 100% sobre células epiteliales bronquiales, describe el aumento en la expresión de IL-6 sin embargo no se reportó el efecto que generó el etanol 100 % (22).

En la presente investigación la capsaicina $2,5 \cdot 10^{-5}$ M aumentó la producción de IL-12p70 a las 8h, siendo este efecto mayor que el del etanol 0,05 %. Podría afirmarse que solo esta citoquina se ve afectada por la capsaicina en su menor concentración a las 8 h. El aumento de esta citoquina puede estar relacionado con la disminución de la PGE₂ como se evidenció en esta investigación, en concordancia con estudios anteriores que han demostrado el efecto inhibitorio de la PGE₂ sobre la producción de la IL 12 en monocitos y macrófagos (23,24). Mitsuhashi y colaboradores (24) también observaron que, en macrófagos, el efecto de la PGE₂ sobre la IL 12p70 es dosis dependiente, a menor concentración de PGE₂ (10^{-9} M), la citoquina alcanzó los más altos niveles y en presencia de la mayor concentración 10^{-5} M se redujo en aproximadamente un 80%.

Al analizar el efecto de la capsaicina sobre la producción de citoquinas proinflamatorias (IL 8, IL 6, IL1 β), se encontró que el efecto es diverso, pero básicamente producido por el etanol. Al contrastar los hallazgos de la presente investigación con la literatura es interesante resaltar que el aumento o disminución que causa la capsaicina en la producción de citoquinas proinflamatorias, depende del tipo celular, de la concentración de la capsaicina y del tiempo del estímulo (12), pero también es necesario considerar que el efecto está asociado al diluyente, tal como se presentó en esta investigación. En investigaciones previas el efecto de la capsaicina se explica porque el NF-

κ B, un importante factor transcripcional que inicia la transcripción de varios mediadores proinflamatorios (25) es bloqueado por diferentes concentraciones de Mg, impidiendo la degradación de $I\kappa B\alpha$, lo que impide la traslocación de la subunidad p65 (26). Miyamoto y colaboradores (12), han demostrado que la capsaicina en FPH inhibe la activación de NF- κ B inducida por TNF, encontrándose que este efecto está asociado al TRPV1.

La expresión de la IL-8 es dosis dependiente de capsaicina. Estudios en queratinocitos de piel estimulados con capsaicina en dosis menores (8 μ M) a las usadas en esta investigación, reportan un aumento en la expresión de IL-8 a las 24 h (16), mientras que en células epiteliales gástricas con dosis mayores (100 μ M) a las empleadas en esta investigación, la IL 8 disminuye (21), en ninguno de estos estudios reportan el diluyente ni su efecto, por lo que también podría generar un efecto sobre la expresión de la citoquina. En relación con la expresión de IL-6 estudios reportan que la capsaicina en concentración de 100 μ M sobre FPH, aumenta la producción de IL-6 a las 24 horas post-estímulo (12), no reportando el diluyente ni su efecto, pero utilizando la misma concentración de capsaicina 100 μ M en tejido adiposo mesentérico, la citoquina disminuye, pero como en el estudio anterior no se describe el disolvente ni se evalúa su efecto, el grupo control estaba representado por el medio de cultivo (27).

En estudios sobre células epiteliales de tracto respiratorio estimuladas con capsaicina 10 μ M se demostró su efecto al aumentar significativamente la IL-6 a partir de las 4h y hasta las 48 h, en comparación con el DMSO que fue utilizado como diluyente (28), esto muestra que el potencial farmacológico de la capsaicina está asociado al diluyente, en este caso el DMSO no tuvo efecto en la producción de citoquinas contrario a los hallazgos encontrados en esta investigación con etanol.

En la presente investigación, los hallazgos sobre FPH referentes al efecto de la capsaicina en el control de los mediadores de la inflamación estudiados, no son concluyentes por el efecto que tuvo el etanol, con excepción del efecto sobre la IL 12p70 que aumentó significativamente. Por lo tanto, se requieren investigaciones sobre el efecto de la capsaicina sobre FPH utilizando otros diluyentes. En esta investigación se puede concluir que el etanol al 0,05 % como diluyente de la capsaicina es el responsable del efecto sobre la disminución en la expresión de la PGE₂, la IL 8, y la IL6 dependiendo del tiempo y la concentración, y la IL 12p70 fue la única citoquina medida que aumentó por efecto de la capsaicina con menor concentración a las 8 h.

CONCLUSIONES

El efecto de la capsaicina sobre FPH, está asociado al etanol 0,05 % utilizado como diluyente y varía dependiendo del tiempo y del mediador analizado.

RECOMENDACIONES

Valorar el efecto de otros vehículos como diluyentes de la capsaicina para poder establecer el verdadero efecto de ésta sobre fibroblastos pulpaes humanos.

AGRADECIMIENTOS

Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología Pontificia Universidad Javeriana por haber financiado este proyecto. Este artículo hace parte del proyecto denominado

“Asociación entre la expresión de PGE2 en fibroblastos pulpares humanos estimulados con capsaicina y el receptor Vanilloide Subtipo 1 y el influjo de Calcio” el cual fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, el día 27 de agosto de 2007, según acta 005 de 2007.

REFERENCIAS

1. Burns RC, Cohen S. Pathways of the pulp. 10ma ed. Chicago: Mosby; 2012.
2. Cohen JS, Reader A, Fertel R, Beck M, Meyers WJ. A radioimmunoassay determination of the concentrations of prostaglandins E2 and F2alpha in painful and asymptomatic human dental pulps. J Endod. 1985 Aug; 11(8): 330-5.
3. Barkhordar RA, Hayashi C, Hussain MZ. Detection of interleukin-6 in human dental pulp and periapical lesions. Endod Dent Traumatol. 1999 Feb; 15(1): 26-7.
4. Buck SH, Burks TF. The neuropharmacology of capsaicin: review of some recent observations. Pharmacol Rev. 1986 Sep; 38(3): 179-226.
5. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature. 1997 Oct 23; 389(6653): 816-24.
6. Denda M, Fuziwara S, Inoue K, Denda S, Akamatsu H, Tomitaka A, et al. Immunoreactivity of VR1 on epidermal keratinocyte of human skin. Biochem Biophys Res Com. 2001 Aug 3; 285(5): 1250-2. DOI: 10.1006/bbrc.2001.5299

7. Dvorakova M, Kummer W. Transient expression of vanilloid receptor subtype 1 in rat cardiomyocytes during development. *Histochem Cell Biol* 2001 Sep; 116(3): 223-5. DOI: 10.1007/s004180100308
8. Partsch G, Matucci-Cerinic M, Marabini S, Jantsch S, Pignone A, Cagnoni M. Collagenase synthesis of rheumatoid arthritis synoviocytes: dose-dependent stimulation by substance P and capsaicin. *Scand J Rheumatol*. 1991; 20(2): 98-103.
9. Matucci-Cerinic M, Marabini S, Jantsch S, Cagnoni M, Partsch G. Effects of capsaicin on the metabolism of rheumatoid arthritis synoviocytes in vitro. *Ann Rheum Dis*. 1990 Aug; 49(8): 598-602.
10. Southall MD, Li T, Gharibova LS, Pei Y, Nicol GD, Travers JB. Activation of epidermal vanilloid receptor-1 induces release of proinflammatory mediators in human keratinocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003 Jan; 304(1): 217-22. DOI: 10.1124/jpet.102.040675
11. Veronesi B, Carter JD, Devlin RB, Simon SA, Oortgiesen M. Neuropeptides and capsaicin stimulate the release of inflammatory cytokines in a human bronchial epithelial cell line. *Neuropeptides*. 1999 Dec; 33(6): 447-56. DOI: 10.1054/npep.1999.0761
12. Miyamoto R, Tokuda M, Sakuta T, Nagaoka S, Torii M. Expression and characterization of vanilloid receptor subtype 1 in human dental pulp cell cultures. *J Endod*. 2005 Sep; 31(9): 652-8.
13. Moreno GC, González JM, Caviedes JF. Efecto de la capsaicina sobre la proliferacion y ciclo celular de fibroblastos pulpares humanos. *Federación Odontológica Colombiana*. 2002: 89-99.
14. Hautkappe M, Roizen MF, Toledano A, Roth S, Jeffries JA, Ostermeier AM. Review of the effectiveness of capsaicin for painful cutaneous disorders and neural dysfunction. *Clin J Pain*. 1998 Jun; 14(2): 97-106.

15. Bhutani M, Pathak AK, Nair AS, Kunnumakkara AB, Guha S, Sethi G, Aggarwal BB. Capsaicin is a novel blocker of constitutive and interleukin-6-inducible STAT3 activation. *Clin Cancer Res.* 2007 May 15; 13(10): 3024-32.
16. Huang J, Qiu L, Ding L, Wang S, Wang J, Zhu Q, Song F, Hu J. Ginsenoside Rb1 and paeoniflorin inhibit transient receptor potential vanilloid-1-activated IL-8 and PGE2 production in a human keratinocyte cell line HaCaT. *Int Immunopharmacol.* 2010 Oct; 10(10): 1279-83. DOI: 10.1016/j.intimp.2010.07.010
17. Holzer P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev.* 1991 Jun; 43(2): 143-201.
18. Trevisani M, Smart D, Gunthorpe MJ, Tognetto M, Barbieri M, Campi B, Amadesi S, Gray J, Jerman JC, Brough SJ, Owen D, Smith GD, Randall AD, Harrison S, Bianchi A, Davis JB, Geppetti P. Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1. *Nat Neurosci.* 2002 Jun; 5(6): 546-51. DOI: 10.1038/nn852
19. Vetter I, Wyse BD, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR, Cabot PJ. Mechanisms involved in potentiation of transient receptor potential vanilloid 1 responses by ethanol. *Eur J Pain.* 2008 May; 12(4): 441-54. DOI: 10.1016/j.ejpain.2007.07.001
20. Gazzieri D, Trevisani M, Springer J, Harrison S, Cottrell GS, Andre E, Nicoletti P, Massi D, Zecchi S, Nosi D, Santucci M, Gerard NP, Lucattelli M, Lungarella G, Fischer A, Grady EF, Bunnett NW, Geppetti P. Substance P released by TRPV1-expressing neurons produces reactive oxygen species that mediate ethanol-induced gastric injury. *Free Radic Biol Med.* 2007 Aug; 43(4): 581-9. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.018

21. Lee IO, Lee KH, Pyo JH, Kim JH, Choi YJ, Lee YC. Anti-inflammatory effect of capsaicin in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *Helicobacter*. 2007 Oct; 12(5): 510-7. DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00521.x
22. Reilly CA, Taylor JL, Lanza DL, Carr BA, Crouch DJ, Yost GS. Capsaicinoids cause inflammation and epithelial cell death through activation of vanilloid receptors. *Toxicol Sci*. 2003 May; 73(1): 170-81. DOI: 10.1093/toxsci/kfg044
23. Van der Pouw Kraan TC, Boeije LC, Smeenk RJ, Wijdenes J, Aarden LA. Prostaglandin-E2 is a potent inhibitor of human interleukin 12 production. *J Exp Med*. 1995 Feb 1; 181(2): 775-9
24. Mitsuhashi M, Liu J, Cao S, Shi X, Ma X. Regulation of interleukin-12 gene expression and its anti-tumor activities by prostaglandin E2 derived from mammary carcinomas. *J Leukoc Biol*. 2004 Aug; 76(2): 322-32. DOI: 10.1189/jlb.120364125.
25. Reuter S, Charlet J, Juncker T, Teiten MH, Dicato M, Diederich M. Effect of curcumin on nuclear factor kappaB signaling pathways in human chronic myelogenous K562 leukemia cells. *Ann N Y Acad*. 2009 Aug; 1171: 436-47. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04731.x
26. Singh S, Natarajan K, Aggarwal BB. Capsaicin (8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) is a potent inhibitor of nuclear transcription factor-kappa B activation by diverse agents. *J Immunol*. 1996 Nov; 157(10): 4412-20.
27. Kang JH, Kim CS, Han IS, Kawada T, Yu R. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Lett*. 2007 Sep 18; 581(23): 4389-96. DOI: 10.1016/j.febslet.2007.07.082

28. Seki N, Shirasaki H, Kikuchi M, Himi T. Capsaicin induces the production of IL-6 in human upper respiratory epithelial cells. Life Sci. 2007 Apr; 80(17): 1592-7. DOI: 10.1016/j.lfs.2007.01.037

CORRESPONDENCIA

María Alexandra Bedoya

bedoya-a@javeriana.edu.co

Luz Stella Rodríguez Camacho

luz-rodriguez@javeriana.edu.co

Gloria Cristina Moreno Abello

gcmoreno@javeriana.edu.co

Lorenza Jaramillo

lorenzaj@javeriana.edu.co