

# El efecto de la capsaicina en fibroblastos pulpaes humanos en la producción de PGE<sub>2</sub> y citocinas proinflamatorias está asociado con el etanol

*The Effect of Capsaicine in Human Pulp Fibroblasts, in the Production of PGE<sub>2</sub> and Proinflammatory Cytokines is associated with Ethanol*

## María Alexandra Bedoya Mejía

Odontóloga, especialista en Endodoncia, maestría en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Docente instructora, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana.

## Luz Stella Rodríguez Camacho

Química, maestría en Bioquímica, Universidad Nacional de Colombia. Doctorada en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Docente asistente, Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

## Lorenza María Jaramillo Gómez

Ingeniera química, Universidad de Manizales, Manizales, Colombia. Magistra en Ciencias, doctora en Biología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Docente asociada, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana.

## Gloria Cristina Moreno Abello

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

## RESUMEN

**Antecedentes:** La capsaicina, por su efecto en el control de diferentes mediadores de la inflamación, se ha propuesto como moduladora de los procesos inflamatorios que sufre el tejido pulpar ante diferentes tipos de agresiones. **Objetivo:** Evaluar el efecto de la capsaicina diluida en etanol al 0,05 % y su vehículo sobre la producción de PGE<sub>2</sub>, IL-8, IL-6, IL-1β, e IL-12p70 en fibroblastos pulpaes humanos (FPH). **Métodos:** Las concentraciones de PGE<sub>2</sub>, IL-8, IL-6, IL-1β e IL-12p70 se analizaron por ELISA o citometría de flujo en sobrenadantes de FPH a las 6 y 8 horas, después de ser estimulados con capsaicina 5 × 10<sup>-5</sup> M y 2,5 × 10<sup>-5</sup> M o etanol al 0,05 % (vehículo de la capsaicina), y se compararon 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 PGE<sub>2</sub>, la IL-8 y la IL-6 a los tiempos y concentraciones evaluadas. La IL-12p-70 fue la única citocina medida que aumentó significativamente en presencia de capsaicina 2,5 × 10<sup>-5</sup> M a las 8 horas, siendo esta estadísticamente mayor que el etanol al 0,05 %. Ni la capsaicina, ni el etanol tuvieron efecto significativo en la IL-1β. **Conclusión:** El efecto de la capsaicina en FPH se asocia al etanol al 0,05 % utilizado como diluyente y varía dependiendo del tiempo y del mediador analizado.

## PALABRAS CLAVE

capsaicina; endodoncia; etanol; fibroblastos; interleucinas; 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 PGE<sub>2</sub> production, IL-8, IL-6, IL-1β, and IL-12p70 in Human Fibroblasts Pulp (FPH). **Methods:** Concentrations of PGE<sub>2</sub>, IL-8, IL-6, IL-1β, 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<sup>-5</sup> M and 2,5×10<sup>-5</sup> 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 PGE<sub>2</sub>, 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<sup>-5</sup> M at 8h, it is statistically greater than ethanol 0.05%. Capsaicin and ethanol had not significant effect on IL-1β. **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

## 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 PGE<sub>2</sub> y citocinas proinflamatorias está asociado con el etanol. Univ Odontol. 2016 Ene-Jun; 35(74): 75-83. <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>

## INTRODUCCIÓN

Durante la elaboración de preparaciones para colocar restauraciones, el tejido pulpar es agredido y ello genera 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. En el tejido pulpar inflamado se han identificado mediadores como la prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ) y citocinas proinflamatorias como interleucinas de tipo IL-8, IL-6, IL- $1\beta$  e IL-12p70 (2,3). En la búsqueda de una herramienta farmacológica de aplicación tópica para la modulación del proceso inflamatorio pulpar esta investigación considera la capsaicina una alternativa que puede disminuir la concentración de mediadores proinflamatorios y mantener la vitalidad del tejido pulpar.

La capsaicina se deriva 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 de ciertas neuronas aferentes a la capsaicina se debe 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 subtipo 1 (VR1 y TRPV1) (5).

Existen pruebas 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 en queratinocitos (6), células epiteliales, fibroblastos de piel, cardiomiocitos (7) y sinoviocitos (8). Los efectos *in vitro* de la capsaicina en sinoviocitos muestran una acción directa sobre proliferación en concentraciones de  $10^{-6}$  M, síntesis de ADN 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 proinflamatorios como COX-2, IL-8,  $PGE_2$  en la piel (10). En células epiteliales bronquiales humanas, la capsaicina estimula la liberación de citocinas proinflamatorias como la IL-8 después de 4 h, a través de la activación del receptor TRPV1 (11).

Miyamoto y colaboradores (12) reportaron la expresión del receptor vanilloide subtipo 1 (VR1 y TRPV1) en fibroblastos de pulpa dental, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR), Western Blot, y análisis de inmunohistoquímica, los cuales demostraron que la capsaicina 10-4 M indujo la expresión de la IL-6 y su expresión se relacionó con la activación del receptor TRPV1. 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 % en la producción de  $PGE_2$ , IL-8, IL- $1\beta$ , IL-6 e IL-12p70 en fibroblastos pulpares humanos (FPH).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 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 formato de 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 min. Los explantes se sembraron en frascos de cultivo añadiendo 6 ml de Medio Eagle Dulbecco Modificado (Sigma D7777), suplementado con suero fetal bovino (GIBCO 16000036) al 10 %, penicilina-estreptomina al 1 % (GIBCO 15140-163) y anfotericina al 0,1 % (Sigma A2942), incubados a 37 °C con 5 % de  $CO_2$ . Para el desprendimiento celular se utilizó tripsina (GIBCO 15050065) al 0,25 % y ácido etilendiaminotetraacético de 1 mM.

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 de  $5 \times 10^{-5}$  M y capsaicina de  $2,5 \times 10^{-5}$  M en medio completo. Los controles incluyeron células sin estímulo y estimuladas con etanol al 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 h y a las 8 h.

### Producción de prostaglandina E<sup>2</sup>

Las concentraciones de PGE<sub>2</sub> se midieron en los sobrenadantes de los cultivos por la técnica de ELISA, siguiendo las instrucciones del fabricante, utilizando el kit de PGE<sub>2</sub>, 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-1β, IL-6 e IL-12p70

Las concentraciones de IL-8, IL-6, IL-1β 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 citocina fueron: IL-8: 3,6 pg/ml; IL-1β: 7,2 pg/ml; IL-6: 2,5 pg/ml; IL12p70: 1,9 pg/ml.

### Análisis estadístico

Los resultados de las concentraciones de PGE<sub>2</sub>, IL-8, IL-6, IL-1β 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  $p < 0,05$ .

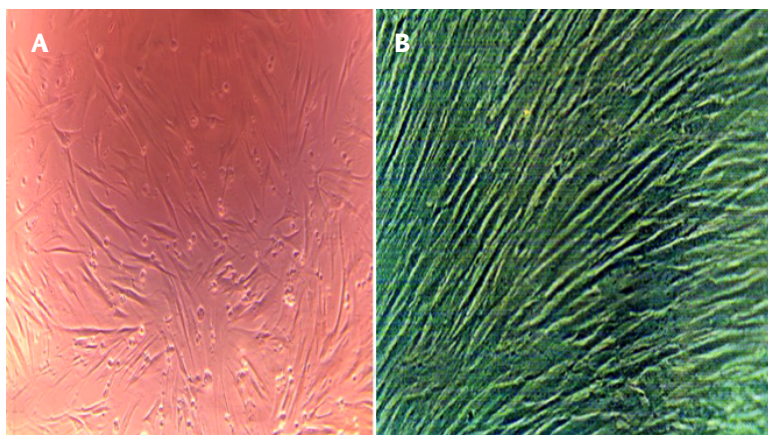
## RESULTADOS

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

Con el fin de evaluar la producción de PGE<sub>2</sub>, IL-8, IL-6, IL-1β 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 CONFLUENTE DE FPH A LOS 45 DÍAS DE CULTIVO

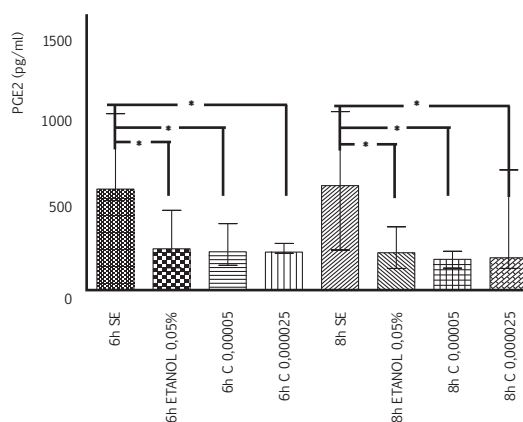


### Efecto de la capsaicina diluida en etanol sobre la producción de PGE<sub>2</sub> en sobrenadantes de FPH

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

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

FIGURA 2  
PRODUCCIÓN DE PGE<sub>2</sub> EN SOBRENADANTES DE FPH,  
ESTIMULADOS CON CAPSAICINA A 6 H Y 8 H



Nota: se presentan medianas y rangos de la concentración de PGE<sub>2</sub> en pg/ml para cada condición experimental.

SE: sin estímulo; C 0,00005 = capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M; C 0,000025 = capsaicina  $2,5 \times 10^{-5}$  M; etanol al 0,05 % (control).

\* Representa las diferencias estadísticas significativas entre los grupos.

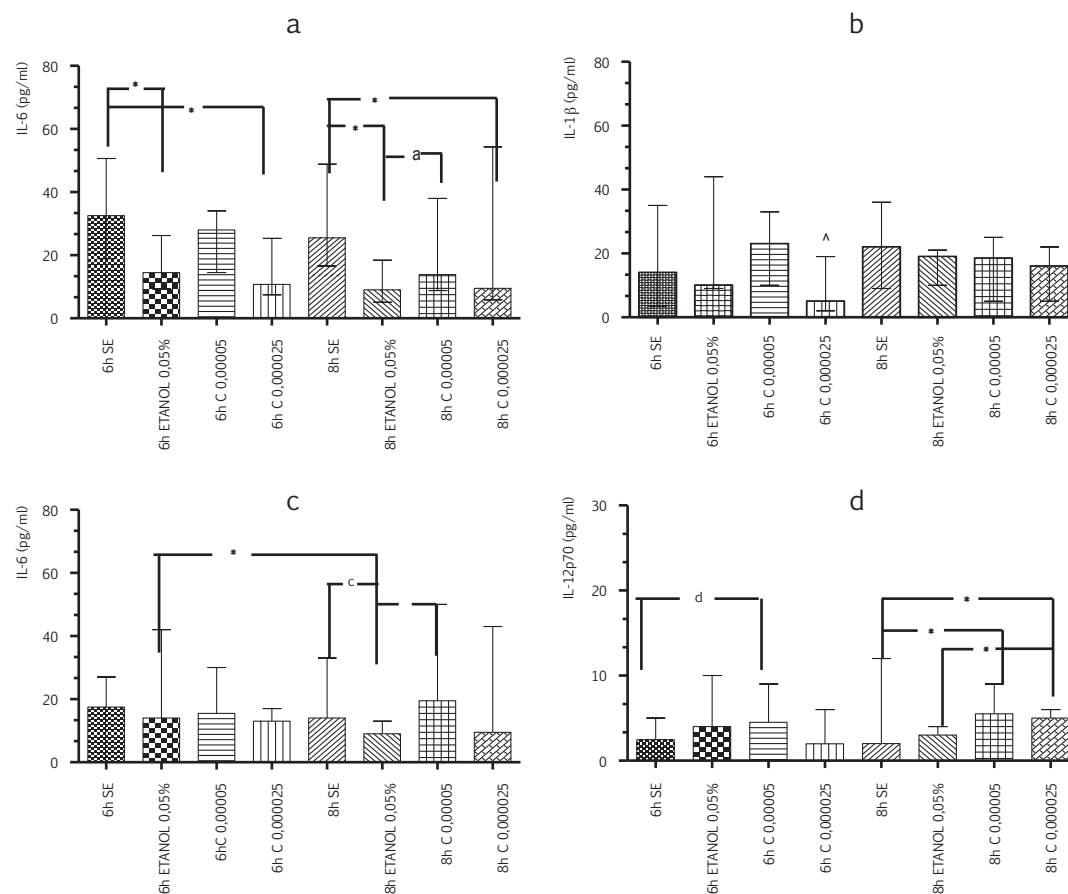
$p < 0,05$  %.

### Efecto de la capsaicina sobre la producción de IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12p70 en sobrenadantes de FPH

Con el fin de establecer si la capsaicina diluida en etanol disminuye la producción de IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12p70 en sobrenadantes de FPH, se tomaron muestras de sobrenadantes de FPH estimulados con capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M y capsaicina  $2,5 \times 10^{-5}$  M, a las 6 h y a las 8 h. 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 al 0,05 % y con capsaicina  $2,5 \times 10^{-5}$  M (6 h y 8 h). Nuevamente,

el efecto de la capsaicina en la menor concentración se asoció al vehículo. Por otro lado, la capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M tiene un comportamiento equivalente en la producción de IL-8 en relación con las células sin estímulo; pero fue estadísticamente superior al compararla con etanol al 0,05 %. La producción de IL-1 $\beta$  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 $\beta$  en presencia de la capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M y del etanol al 0,05 % a las 6 h. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la capsaicina y su vehículo a las 6 h y a las 8 h ( $p > 0,05$ ). 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 al 0,05 % a las 8 h, en relación con las células sin estímulo y las estimuladas con capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,05$ ). No se encuentran efectos significativos de la capsaicina ni de su vehículo a las 6 h. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la producción de IL-6 causada por el etanol al 0,05 % entre las 6 h y 8 h ( $p = 0,0079$ ).

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



Nota: se presentan medianas y rangos para cada citocina según la condición experimental.  
SE = sin estímulo; C 0,00005 = capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M; C 0,000025 = capsaicina  $2,5 \times 10^{-5}$  M. Etanol al 0,05 % (control).

\* Representa las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

$p = 0,05$ . Prueba U de Mann-Whitney.

^ = representa mediana bajo los límites de sensibilidad.

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

## DISCUSIÓN

La capsaicina disminuye el dolor y los procesos inflamatorios en pacientes con neuralgia posherpética, 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 citocinas 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 al 0,05 % sobre FPH, como un fármaco que potencialmente pueda controlar la inflamación pulpar, se encontró que aun cuando la capsaicina  $5 \times 10^{-5}$  M y la  $2,5 \times 10^{-5}$  M tienden a disminuir la producción de  $PGE_2$  a las 6 h y a las 8 h, es el etanol al 0,05 % el que genera el efecto de disminución.

Aunque la capsaicina  $2,5 \times 10^{-5}$  M tiende a disminuir la producción de IL-8, IL-6 e IL-1 $\beta$  a las 6 h y a las 8 h, es también el etanol al 0,05 % el que genera el efecto de disminución. Existen otros solventes de la capsaicina como el cloroformo, el éter y el benceno que, dada su toxicidad, no pueden usarse clínicamente (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 emplea en concentraciones de 0,1 % sobre tejido de esófago, piel y médula espinal dorsal, pues libera neuropéptidos y extravasa 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 y gran variedad de lípidos,

incluidos 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 potencia 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 (PIP<sub>2</sub>) (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 nunca supera la acción de la capsaicina (13).

Es importante analizar que en varios estudios (12,21,22) donde se evalúa la producción de citocinas 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 capsacepina 30  $\mu$ M (antagonista del receptor TRPV1) después de 12 h. 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. pylori* y estimuladas con capsaicina 10  $\mu$ 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  $\mu$ M diluida en etanol al 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 al 100 % (22).

En la presente investigación, la capsaicina  $2,5 \times 10^{-5}$  M aumentó la producción de IL-12p70 a las 8 h, efecto que fue mayor que el del etanol al 0,05 %. Así, se afirma que solo esta citocina se ve afectada por la capsaicina en su menor concentración a las 8 h. El aumento de esta citocina puede estar relacionado con la disminución de la  $PGE_2$ , como se evidenció en esta investigación, en concordancia con estudios anteriores que han demostrado el efecto inhibitorio de la  $PGE_2$  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  $PGE_2$  sobre la IL-12p70 es dosis dependiente: a menor concentración de  $PGE_2$  ( $10^{-9}$  M), la citocina 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 en la producción de citocinas proinflamatorias (IL-8, IL-6 e IL-1 $\beta$ ), 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 la disminución que causa la capsaicina en la producción de citocinas 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 estudios previos el efecto de la capsaicina se explica porque el NF- $\kappa$ B, un importante factor transcripcional que inicia la transcripción de varios mediadores proinflamatorios (25), es bloqueado por diferentes concentraciones de Mg, lo que impide la degradación de  $\kappa$ B $\alpha$  e impide la traslocación de la subunidad p65 (26). Miyamoto y colaboradores (12) han demostrado que la capsaicina en FPH inhibe la activación de NF- $\kappa$ B inducida por TNF y encontraron 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 ( $8 \mu$ M) a las usadas en esta investigación reportaron un aumento en la expresión de IL-8 a las 24 h (16); mientras que en células epiteliales gástricas con dosis mayores ( $100 \mu$ 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 citocina. En relación con la expresión de IL-6, estudios reportan que la capsaicina en concentración de  $100 \mu$ M sobre FPH aumenta la producción de IL-6 a las 24 horas postestímulo (12), sin que se reporte ni el diluyente ni su efecto. Entre tanto, utilizando la misma concentración de capsaicina  $100 \mu$ M en tejido adiposo mesentérico, la citocina 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 las vías respiratorias estimuladas con capsaicina  $10 \mu$ M se demostró su efecto al aumentar significativamente la IL-6 a

partir de las 4 h y hasta las 48 h, en comparación con el dimetil sulfóxido, utilizado como diluyente (28). Esto muestra que el potencial farmacológico de la capsaicina está asociado al diluyente, y en este caso el dimetil sulfóxido no tuvo efecto en la producción de citocinas, 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 se incrementó significativamente. Por lo tanto, se requieren investigaciones sobre el efecto de la capsaicina en FPH utilizando otros diluyentes.

## CONCLUSIONES

En esta investigación se puede concluir que el etanol al 0,05 %, como diluyente de la capsaicina, es el responsable de la disminución en la expresión de la  $PGE_2$ , la IL 8 y la IL-6, dependiendo del tiempo y la concentración, y la IL-12p70 fue la única citocina medida que aumentó por efecto de la capsaicina con menor concentración a las 8 h.

El efecto de la capsaicina sobre FPH está asociado al etanol al 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 esta en fibroblastos pulpaes humanos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, por haber financiado este proyecto. Este artículo hace parte del proyecto denominado *Asociación entre la expresión de  $PGE_2$  en fibroblastos pulpaes humanos estimulados con capsaicina y el receptor vanilloide subtipo 1 y el flujo de calcio*, el cual fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, el 27 de agosto de 2007, según acta 005 de 2007.

## REFERENCIAS

1. Burns RC, Cohen S. Pathways of the pulp. 10a 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 proliferación y ciclo celular de fibroblastos pulpares humanos. Bogotá: Federación Odontológica Colombiana; 2002.
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, Boeijs 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 Sep18; 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 Mejía  
bedoya-a@javeriana.edu.co

Luz Stella Rodríguez Camacho  
luz-rodriguez@javeriana.edu.co

Lorenza María Jaramillo Gómez  
lorenzaj@javeriana.edu.co

Gloria Cristina Moreno Abello  
gcmoreno@javeriana.edu.co