

Niveles de serotonina en pacientes con dolor orofacial

ANA ADELA TERÁN* • LUIS ENRIQUE GONZÁLEZ** • BEATRIZ MILLÁN-MENDOZA***
JOSÉ ANTONIO RINCÓN T.****

*Departamento de Odontología Restauradora. Facultad de Odontología. **Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de los Andes. ***Centro de Investigaciones. Facultad de Odontología. Universidad de los Andes. ****Residente postgrado de Ginecología y Obstetricia. Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes. Mérida, Venezuela. E-mail: anadelat@gmail.com

RESUMEN

El dolor orofacial es mediado por la serotonina, aunque el papel que ésta desempeña no ha sido del todo dilucidado. Se propone determinar la concentración de serotonina presente en el suero y plasma de pacientes con dolor orofacial asociado con trastornos temporomandibulares, verificando la medición mediante un conteo plaquetario. Se seleccionaron 20 pacientes en edades comprendidas entre 20 y 62 años, 10 de ellos con dolor orofacial intenso y con una duración de más de 100 horas, en cara, cabeza o cuello, en uno o ambos lados, en reposo o durante la función masticatoria, presentando también sensibilidad a la palpación muscular con o sin limitación en los movimientos mandibulares y/o sonidos articulares (casos) y 10 individuos sanos (no casos). Se tomó una muestra de sangre (5 ml), de la cual se obtuvo suero y plasma. Se realizó la técnica de microdiálisis *in vitro* y posteriormente el método analítico de cromatografía líquida de alta presión con detección electroquímica. La concentración de serotonina obtenida en el suero de los casos, fue significativamente menor a la concentración de serotonina del suero de los no casos. Los resultados sugieren que la disminución en la concentración de serotonina sérica, puede relacionarse con el dolor intenso y crónico, de origen temporomandibular.

Palabras clave: dolor orofacial, serotonina, suero, plasma, microdiálisis, cromatografía líquida de alta presión.

SEROTONIN LEVELS IN PATIENTS WITH OROFACIAL PAIN

ABSTRACT

Orofacial pain is regulated by serotonin even though its role has not been clearly explained. The aim in this study was to determine serotonin concentration in serum and platelets in patients suffering from orofacial pain associated with temporomandibular disorders; measures were verified by platelets counting. Participants were 20 patients aging between 20 and 62 years old. Of these patients, ten were healthy and shared demographic characteristics (no cases); the other ten presented intense orofacial pain in face, head or neck, in one or both sides, at rest or during the masticatory function, with duration of approximately 100 hours and sensitivity to the muscular palpation with or without limitation in the jaw movements or articular sounds (cases). A 5 μ l blood sample was taken to obtain plasma and serum. A microdialysis technique in vitro and a later analysis using the analytic method of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with electrochemical detection were performed. The results show that the serotonin concentrations in the serum of the patients with this type of pain (cases) were significantly smaller than the serotonin concentrations obtained from the serum of healthy patients (no cases). These results suggest that lower serum serotonin concentration can be related to the intensity and chronicity of pain with temporomandibular origin.

Key words: Orofacial pain, serotonin, serum, plasma, microdialysis, high-performance liquid chromatographic method.

Introducción

El campo del dolor orofacial, abarca condiciones de dolor que están asociadas con los tejidos duros y blandos de la cabeza, cara, cuello y todas las estructuras intraorales. El rango de diagnóstico incluye; dolor de cabeza, dolores músculo esqueléticos, dolores neurogénicos y dolores psicogénicos (1). La mayoría de los pacientes refieren dolor y sensibilidad a la palpación de los músculos masticatorios, lo cual lleva a una limitación en los movimientos mandibulares, además de sonidos articulares en aproximadamente el 57% de los pacientes con este tipo de trastorno temporomandibular (TTM) (2).

La serotonina es un neurotransmisor perteneciente al grupo de las aminas biógenas (monoaminas), la cual es sintetizada en el sistema nervioso central a partir del L-triptófano, que es un aminoácido esencial de la dieta. Es el mediador del poten-

cial post-sináptico excitador, no colinérgico, en un alto porcentaje (60%) de las neuronas aisladas del ganglio celíaco y del plexo mesentérico superior. Se cree que también colabora en el control del estado de ánimo de una persona, llegando incluso a causar sueño, pues su efecto es potenciado por antidepresivos tricíclicos (3,4,5).

La serotonina, entre otras sustancias liberadas por células tisulares (plaquetas o mastocitos) o por fibras nerviosas terminales aferentes, es considerada nociceptiva, ya que produce sensibilización química de los receptores periféricos, favoreciendo la respuesta inflamatoria aguda o crónica de un músculo lesionado o inflamado (6,7); numerosos estudios han tratado de correlacionar la presencia de dolor, TTM y trastornos psiquiátricos, con un gen polimórfico transportador de serotonina, sin embargo, no se ha logrado demostrar tal asociación (8, 9), aunque se ha encontrado una relación estadísticamente significativa entre los niveles elevados

de serotonina tisular, prostaglandina E₂, y la actividad eferente incrementada por la bradiquinina, a nivel de los receptores musculares del grupo IV (10,11).

Periféricamente la serotonina es transportada y almacenada en cuerpos densos, conocidos como gránulos delta que poseen los mastocitos y las plaquetas, las cuales regulan su liberación a través de un cuidadoso y selectivo sistema de transporte de la serotonina (5-HT transportador) a nivel de la membrana plasmática, mediante un mecanismo de fosforilación, que afecta los sitios de unión del neurotransmisor; siendo liberada en el torrente sanguíneo, simultáneamente con la histamina en la degranulación inducida por varias sustancias tales como la sustancia P o el neuropéptido Y; o por mecanismos de activación importantes para la agregación plaquetaria durante la hemostasis, de ahí la importancia de conocer sus valores (12,13).

Aunque a nivel central, la serotonina potencia la analgesia debida a endorfinas y actúa como un inhibidor de las vías del dolor en la médula (11,14); se ha observado que periféricamente, produce hiperalgesia, por una acción directa sobre los receptores 1A (5-HT_{1a}) de las neuronas sensoriales aferentes primarias, a la vez que participa en la mediación del dolor espontáneo de los tejidos periféricos inflamados (mialgia) por la estimulación o sensibilización de unidades aferentes finas por la vía de los receptores (5-HT₃) (15, 16). También modula la motilidad gastrointestinal, el tono vascular periférico, el tono vascular cerebral, la función plaquetaria e, incluso, regula el apetito, el humor, la vigilia y la percepción (17,18,19).

Autores demostraron que al administrar serotonina intramuscular en el masetero de doce individuos sanos, de sexo femenino, se induce significativamente dolor; el cual es fácilmente detectable y registrable, no observando efectos vasculares con la dosis administrada (20).

La presencia de serotonina y sus metabolitos, en fluido sinovial y sangre de pacientes con osteoartritis y artritis reumatoide, ha sido claramente evidenciada (21); llegando a encontrarse niveles elevados de serotonina y de interleuquina 1 β en fluido sinovial de pacientes con TTM, en comparación

con los resultados obtenidos de individuos sanos (22). En este tipo de pacientes un mecanismo serotoninérgico de dolor parece estar activado, pues los niveles de serotonina incrementan tanto en plasma como en fluido sinovial a medida que la enfermedad progresa, lo que permite concluir que la serotonina y sus metabolitos representan un marcador útil de diagnóstico para este tipo de patología (23).

Se ha propuesto que el dolor orofacial, observado en pacientes con TTM; puede ser mediado por sustancias químicas, tales como la serotonina. Sin embargo, el papel que ésta desempeña en la patogénesis e intensidad de este dolor, aún no ha sido del todo dilucidado. El presente trabajo, pretende mediante la utilización de técnicas de microdiálisis *in vitro* y cromatografía líquida de alta presión con detección electroquímica, determinar la concentración de serotonina presente en el suero y plasma de este tipo de pacientes, verificando tal medición mediante un conteo plaquetario, ya que es bien conocido que la serotonina se almacena en las plaquetas y eventualmente es liberada en el plasma sanguíneo.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en un grupo de 20 pacientes; 10 de ellos sexo femenino, en edades comprendidas entre los 20 y 62 años con un promedio de 33,5 años de edad; que acudieron a la Clínica Estomatológica, a la Clínica de Coronas y Puentes Fijos o al Postgrado de Rehabilitación Bucal de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes; y 10 individuos sanos, similares a los pacientes.

Los pacientes se seleccionaron aleatoriamente y se evaluaron en la clínica del Postgrado de Rehabilitación Bucal, realizándoles un interrogatorio y un exhaustivo examen clínico intra y extroralmente.

En el examen clínico se determinó la presencia de dolor orofacial asociado con TTM, tales como: sensibilidad a la palpación muscular, con limitación o no en los movimientos mandibulares provocada por la función y/o sonidos articulares.

La intensidad y las características del dolor, se estimaron mediante la utilización de una escala numérica (del 0 = no hay dolor, al 10 = dolor más intenso experimentado) y una escala verbal descriptiva (24), contempladas en la historia clínica de cada paciente (25).

Se llamó casos: al grupo de pacientes que refirieron dolor orofacial intenso con una puntuación mayor de 6 en la escala numérica y con una duración de más de 100 horas, en cara, cabeza o cuello, en uno o ambos lados, en reposo o durante la función, pudiéndose encontrar además del dolor orofacial, sensibilidad a la palpación muscular que pudiera conducir o no a limitación en los movimientos mandibulares de apertura y/o cierre y lateralidad provocada por la función, y/o sonidos articulares, excluyendo aquellos pacientes cuyo dolor era de origen dental, además de aquellos pacientes que presentaran carcinomas, gripe, diarrea, disnea, ataques cardíacos, migraña, hipertensión, cirrosis, menstruación, o que estuviesen bajo tratamiento con psicofármacos; ya que en todas estas condiciones los niveles extracelulares de serotonina podrían estar incrementados (26).

Se llamó no casos: al grupo de individuos sanos, que en condiciones demográficas similares a los casos, no presentaban dolor orofacial asociado con TTM, ni sintomatología sugestiva de patología articular.

Una vez seleccionados los individuos y asignados como casos o no casos, se procedió a explicarles los aspectos concernientes a la investigación, sus alcances y beneficios, se les llenó una planilla de trabajo para la recolección de los datos y una planilla de aceptación consciente o autorización, para participar en la investigación. Se instruyó al paciente a abstenerse por tres días antes de tomar la muestra de sangre, de consumir alimentos ricos en precursores de serotonina tales como: aguacate, chocolate, cambur, ciruela, piña, tomates, berenjena, maní o nueces, así como también de fumar y consumir café o té y, en lo posible, evitar el consumo de medicamentos como aspirina o antiinflamatorios no esteroideos.

Toma de la muestra

Las muestras de sangre se tomaron por venopunción, verificando previamente el estricto cumplimiento de las indicaciones dadas y el estado de ayuno del paciente. La toma de la muestra sanguínea no fue traumática, ni presentó ninguna señal de hemólisis.

La muestra de cada paciente se dividió en dos tubos (tubo seco y tubo con anticoagulante de citrato de sodio 0,129 M) con el fin de obtener suero, plasma y realizar el conteo plaquetario; 500 μ l de plasma y 500 μ l de suero fueron separados y alícuotados en tubos Eppendorf de 0,7 ml (Axygen MCTO70), debidamente rotulados, sellados usando papel Parafilm (Sigma P7543) y mantenidos en congelación a -70°C hasta completar el total de las muestras.

A cada paciente se le realizó la prueba del conteo plaquetario, utilizando el método tradicional de la cámara de Neubauer con la mezcla del sistema Bio-Pet, utilizando para ello 20 μ l de sangre citratada tomada antes de ser sometida al proceso de centrifugación.

Análisis de la muestra

• **MICRODIÁLISIS.** La muestra de plasma o suero se colocó en un pequeño tubo de vidrio, al cual se le introdujo una cánula recta de microdiálisis de 4 mm de longitud, conectada a una bomba de perfusión donde la solución de Ringer fue utilizada para perfundir la cánula a 1 ml/minuto, recogiendo 20 ml de dializado en 20 minutos en un colector de microfracción de polietileno (27).

• **ANÁLISIS DEL DIALIZADO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA.** El dializado de la muestra fue manualmente inyectado en el equipo modelo 7125. Se inyectaron 20 μ l con la finalidad de permitir la separación de la serotonina de otros analitos presentes en la muestra y su posterior detección a través de un detector electroquímico (Waters modelo 464, Milford, MA, USA). El potencial de oxidación fue colocado en +585 mV entre un electrodo de trabajo de carbón de vidrio y un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

La fase móvil fue 100 mL de hidróxido de sodio 1,2 M (Baker, Inc.), 100 mL de ácido monocloroacético 1,5 M (Riedel-deHaën) con 37,2 mg de ácido etilendiaminotetraacético EDTA (Sigma), 216 mg de ácido L octano sulfónico (Merck) y 6% de acetonitrilo ajustado a un pH de 3,2.

El filtrado y la fase móvil degasificada, se pasaron a través de una bomba a pistón dual (Waters, modelo 515) con un flujo de 1,0 ml/min. La separación se hizo con una columna de partículas de 3 μm Velosep RP-18 (Applied Biosystems, Brownlee Columns, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) de 100 mm de longitud con 3,2 mm de diámetro.

La identificación (por tiempos retenidos) y medición del compuesto (por picos de altura) en la muestra se obtuvo por comparación de 20, 50 y 100 pg por 20 μl de solución estándar de 5-HT (5-Hydroxi-Triptamina creatinina sulfato), la cual fue disuelta en agua desionizada 18,2 M Ω (Alpha Q Millipore, Bedford, MA, USA) y preparada a 1 pg/ μl en ácido clorhídrico 0,1 M con 100 μM de ácido etilendiamino tetraacético (EDTA). Todas las sustancias químicas fueron calibradas analíticamente al igual que el equipo, cuando fue necesario (26).

La ejecución de la microdialísis permitió obtener dializados tanto de plasma como de suero en condiciones óptimas de pureza para así evitar cualquier interferencia y ahorro de tiempo en el momento de realizar la determinación cromatográfica cuyo requerimiento esencial es que las muestras sean clarificadas o depuradas mediante el procedimiento de microdializado *in vitro*, en el cual se comprobó la separación por ósmosis de sustancias de alto peso molecular u otro tipo de proteínas.

Los niveles promedio de serotonina (5-HT), se midieron comparando las alturas de los picos de las soluciones estándar, con la altura de los picos de las sustancias de los dializados de los pacientes y fueron expresadas en pg/20 μl .

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos de la comparación del grupo experimental y de los controles, se hizo utilizando el t-Test y el análisis de varianza de una cola (ANOVA) para medidas repeti-

das, seguido por un efecto simple de comparación a un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Resultados

Los resultados obtenidos del conteo plaquetario realizado a los casos y no casos, se encontraron dentro del rango de normalidad, observando valores ligeramente mayores en el grupo de los casos en relación al grupo de los no casos. La concentración mínima encontrada en el grupo de los casos, es de 170.000 plaquetas/ml y la máxima de 305.000 plaquetas/ml. Para el grupo de no casos, el nivel mínimo de plaquetas encontradas fue de 149.000 plaquetas/ml y el máximo de 250.000 plaquetas/ml. (Figura 1).

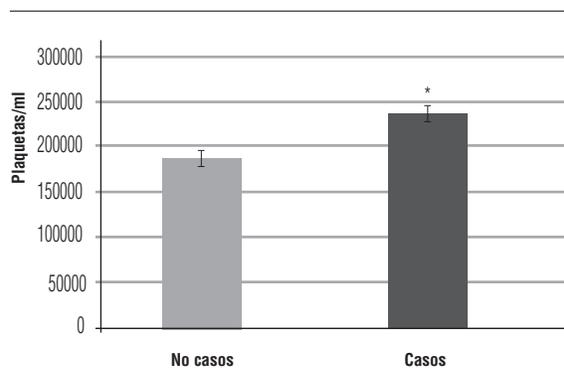


Figura 1. Contaje plaquetario promedio de los grupos de estudio

* $p < 0,006$ para el grupo CASOS.

La determinación de la concentración de serotonina, en las muestras de dializado del plasma en el grupo de casos y no casos, no revelaron diferencias significativas entre ellos ($p = 0,2$). La cantidad mínima de serotonina detectada en plasma en el grupo de casos fue de 3,3 pg/20 μl con una concentración máxima de 10,6 pg/20 μl ; con un promedio de 6,98 pg/20 μl y un error estándar de 0,6702. En el grupo de no casos, la concentración mínima fue 1,9 pg/20 μl y la máxima de 10,3 pg/20 μl ; con un promedio de 5,99 pg/20 μl y un error estándar de 0,9126 (Figura 2).

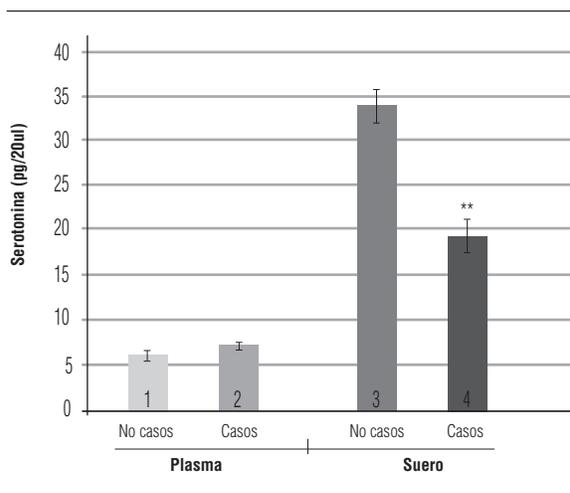


Figura 2. Niveles promedio de serotonina en dializados de plasma y suero de grupo CASOS con dolor orofacial intenso de origen temporomandibular y de grupo NO CASOS

** p< 0.001 CASOS Vs. NO CASOS. (Suero).

Las concentraciones de serotonina en el suero de los casos, fueron significativamente menores a las de los no casos (P<0,003). La cantidad mínima de serotonina detectada en el suero, en el grupo de casos, fue de 8,8 pg/20µl con una concentración máxima de 46,5 pg/20µl; con un promedio de 18,84 pg/20µl y un error estándar de 3,5361. En el grupo de no casos, la concentración mínima fue de 20,2 pg/20µl y la máxima de 47,5 pg/20µl; con un promedio de 34,19 pg/20µl y un error estándar de 3,4427 (Figura 2).

Discusión

Los resultados de este estudio indican que el dolor intenso y crónico de origen temporomandibular, está relacionado con una disminución de la concentración de serotonina sérica. Estos resultados muestran que las concentraciones de serotonina en el suero de los pacientes con este tipo de dolor (casos), fueron significativamente menores a las concentraciones de serotonina obtenidas del suero de individuos sanos (no casos). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de serotonina de casos y no casos.

La relación entre dolor y concentraciones séricas de serotonina ha sido estudiada anteriormente (6), encontrándose asociación directa entre niveles bajos de serotonina sérica y alodinia localizada en los músculos temporomandibulares de pacientes con dolor orofacial crónico de origen muscular; también se ha observado relación entre niveles bajos de serotonina sérica en pacientes con fibromialgia al compararlos con pacientes con artritis reumatoidea; lo cual podría explicar el efecto analgésico que brindan los antidepressivos tricíclicos en este tipo de pacientes. Sin embargo, se han relacionado niveles altos de serotonina sérica y alodinia de la articulación temporomandibular en pacientes con artritis reumatoidea (28).

Se ha encontrado que los niveles de serotonina plaquetaria son más bajos en pacientes con dolor crónico tensional y cefalea que en los controles normales (29). En pacientes con cefalalgias, se encontraron niveles plasmáticos elevados de arginina y bajos de serotonina (30).

El presente estudio confirma una diferencia en las concentraciones séricas de serotonina entre el grupo de casos y no casos. Sin embargo, esta diferencia no fue detectada en plasma; no se ha encontrado diferencia significativa entre los niveles de serotonina sérica y plasmática en pacientes con fibromialgia e individuos sanos. No se incluyeron en este estudio pacientes con enfermedades sistémicas del tipo de la fibromialgia o artritis reumatoidea (31).

Con relación a la edad de la muestra, la edad promedio de los casos fue de 33,3 ± 3,64 y de los no casos fue de 29,9 ± 1,79 años, estos hallazgos están de acuerdo con autores que dicen que los signos y síntomas de TTM, generalmente se incrementan en frecuencia y severidad a partir de la segunda década de vida, con predominio en mujeres, en proporción que va de 3:1 a 9:1 (32).

La mutua cooperación que existe entre las plaquetas y la serotonina es bien conocida ya que las plaquetas representan el mayor sitio de almacenamiento periférico de la serotonina y son las responsables de tomar la serotonina del intestino y pulmones, razón por la cual en este estudio se incluyó la medición del nivel plaquetario, con el fin

de analizar su relación entre los grupos evaluados y los niveles de serotonina y así tratar de dar una explicación a la baja concentración de serotonina sérica de pacientes con dolor en relación con los individuos sin dolor. A pesar de que en ambos grupos los valores estuvieron dentro de un rango de normalidad, si hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de casos y no casos, ya que los valores de los casos fueron ligeramente más altos; pudiendo afirmarse entonces que los niveles bajos de serotonina sérica no se deben a depleción plaquetaria. La disminución de la serotonina sérica, pudiera deberse a un incremento en la unión de serotonina a los receptores serotoninérgicos periféricos los cuales es bien conocido que inducen dolor en los seres humanos, como se observó en pacientes con dolor orofacial intenso crónico, condición ésta que se asocia con niveles bajos de serotonina sérica. La mayor actividad nociceptiva de las fibras periféricas conllevaría una mayor liberación de la serotonina por parte de las plaquetas debido a que el terminal periférico del dolor activa la liberación de serotonina de las plaquetas vía sustancia P (33).

Sin embargo, de acuerdo a nuestro conocimiento, no existen estudios previos que comparen la concentración de serotonina obtenida por microdiálisis de suero y plasma de pacientes con dolor orofacial asociado con TTM, con individuos que no presentan este tipo de dolor.

La técnica utilizada ofrece muchas ventajas, pues la toma de la muestra es rápida y tanto el suero como el plasma son preparados siguiendo los métodos convencionales por lo que requieren de muy poco volumen de sangre. El procedimiento de obtención del dializado se realiza *in vitro* a un volumen exacto de la matriz y bajo condiciones controladas y el procedimiento del análisis por cromatografía líquida, se encuentra estandarizado (26, 30), lo que hizo factible la ejecución del trabajo, obteniendo resultados confiables a pesar de que estos se refieran a una población clínica seleccionada con criterios muy específicos.

Los resultados obtenidos indican que niveles disminuidos de serotonina en suero de pacientes que manifiesten síntomas dolorosos, pueden ser

tomados como un indicador de trastornos temporomandibulares del tipo de dolor orofacial.

Sería recomendable estudiar una población mayor de pacientes con este tipo de patología para poder correlacionar los resultados obtenidos con otras alteraciones no incluidas en este estudio.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al CDCHT de la Universidad de Los Andes, por su continuo e invaluable apoyo a las labores de investigación, especialmente por el financiamiento de este proyecto, designado con el código: No. O-075-00-07-C.

Referencias

1. Rosenbaum R, Gross S, Pertes R, Ashman L, Kreisberg M. The scope of TMD/orofacial pain (head and neck pain management) in contemporary dental practice. *J Orofac Pain* 1997; 13: 238-245.
2. The President's Conference on the examinations diagnosis and management of temporomandibular disorders. Published by American Dental Association. Cap. 5. 1982.
3. Dun N, Kiraly M, Ma R. Evidence for a serotonin-mediated slow excitatory potential in the guinea-pig coeliac ganglia. *J Physiol* 1984; 351: 61-76.
4. Guyton A. *Anatomía y fisiología del sistema nervioso: neurociencia básica*. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 1989.
5. Bell W. *Orofacial Pains. Classification. Diagnosis. Management*. 4th Edition. Chicago-USA: Year book medical publishers, Inc.; 1989.
6. Ernberg M., Hedenberg-Magnusson B., Alstergren P. Kopp S. The level of serotonin in the superficial masseter muscle in relation to local pain and allodynia. *Life Sci* 1999; 65: 313-325.
7. Ernberg M, Lundeberg T, Kopp S. Pain and allodynia/hyperalgesia induced by intramuscular injection of serotonin in patients with fibromyalgia and healthy individuals. *Pain* 2000; 85: 31-39.
8. Herken H, Erdal E, Mutlu N, Barlas O, Cataloluk O, Oz F, y col. Possible association of temporomandibular joint pain and dysfunction with a polymorphism in the serotonin transporter gene. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001; 120: 308-313.
9. Kaiser R, Muller-Oerlinghausen B, Filler D, Tremblay P, Berghofer A, Roots I. y col.. Correlation between serotonin uptake in human blood platelets with the 44-bp polymorphism and 17-bp variable number of tandem repeat of the serotonin transporter. *Am J Med Genet* 2002; 114: 323-328.
10. Sessle B. The neural basis of temporomandibular joint and masticatory muscle pain. *J Orofac Pain* 1999; 13: 238-245.
11. Birrell G, McQueen D, Iggo A, Grubb B. The effects of 5-HT on articular sensory receptors in normal and arthritic rats. *Br. J. Pharmacol* 1990; 101: 715-721.
12. White J. Electron opaque structures in human platelets: which are or are not dense bodies? *Platelets* 2008; 19: 455-466.
13. Zarpellon A, Donella-Deana A, Folda A, Turetta L, Pavanetto M, Deana R. Serotonin (5-HT) transport in human platelets is modulated by Src-catalysed Tyr-phosphorylation of the plasma membrana transporter SERT. *Cell Physiol Biochem* 2008; 21: 87-94.
14. Okeson J. *Dolor Orofacial según Bell*. 5^a ed. Barcelona, España: Quintessence books; 1999.
15. Alstergren P. Kopp S. Pain and synovial fluid concentration of serotonin in arthritic temporomandibular joints. *Pain* 1997; 72: 132-143.
16. Kopp S. The influence of neuropeptides, serotonin, and interleukin 1 b on temporomandibular joint pain and inflamation. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 189-191.
17. Kroeze W, Kristiansen K, Roth B. Molecular biology of serotonin receptors structure and function at the molecular level. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 507-528.
18. Mohammad-Zadeh L, Moses L, Gwaltney-Brant S. Serotonin: a review. *J Vet Pharmacol Ther* 2008; 31: 187-199.

19. Jonnakuty C, Gragnoli C. What do we know about serotonin?. *J Cell Physiol* 2008; 217: 301-306.
20. Ernberg M, Hedenberg-Magnusson B, Kurita H, Kopp S. Effects of local serotonin administration on pain and microcirculation in the human masseter muscle. *J Orofac Pain* 2006; 20: 241-248.
21. Igari T, Shimamura I. Serotonin metabolism and its enzymic activities in joint diseases. *Clin Orthop* 1979; 139: 232-249.
22. Alstergren P, Kopp S, Theodorsson E. Synovial fluid sampling from the temporomandibular joint: sample quality criteria and levels of interleukin-1b and serotonin. *Acta Odontol Scand* 1999; 56: 16-22.
23. Kopp S, Alstergren P. Blood serotonin and joint pain in seropositive versus seronegative rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm* 2002; 11: 211-217.
24. Downie W, Leatham P, Rhind V, Wright V, Branco J, Anderson J. Studies with pain rating scales. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1978; 37: 378-381.
25. Dworkin S, LeResche L. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders: review, criteria, examinations and specifications, critique. *J Craniomandibular Disorders: Facial and Oral Pain* 1992; 6: 301- 355.
26. Páez X, Hernández L. Plasma serotonin monitoring by blood microdialysis coupled to high-performance liquid chromatography with electrochemical detection in humans. *J Chromatogr B* 1998; 720: 33-38.
27. Cheng F, Yang L, Chang FM, Chia L, Kuo J. Simultaneous measurement of serotonin, catecholamines and their metabolites in cat and human plasma by in vitro microdialysis high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *J Chromatogr* 1992; 582: 19-27.
28. Alstergren P, Ernberg M, Kopp S, Lundeberg T, Theodorsson E. TMJ pain in relation to circulating neuropeptide Y, serotonin and interleukin-1b in rheumatoid arthritis. *J Orofac Pain* 1999; 13: 49-55.
29. Anthony M, Lance J. Plasma serotonin in patients with chronic tension headaches. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52: 182-184.
30. Martínez B, González L, Silva E, Montoya D, Moreno R, Rada P. y col. Concentraciones plasmáticas de serotonina y de arginina en pacientes con cefalalgias. *Gac Méd Caracas* 2005; 113 (2): 242-246.
31. Ernberg M, Voog U, Alstergren P, Lundeberg T, Kopp S. Plasma and serum serotonin levels and their relationship to orofacial pain and anxiety in fibromyalgia. *J Orofac Pain* 2000; 14: 37-46.
32. McNeill Ch. Temporomandibular Disorders Guidelines for Classification, Assessment, and Management. 2^a ed. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc.; 1993. p. 141.
33. Bausbaum A, Thomas J. La percepción del dolor. En E Kandel, J Schwartz, T Jessell. (Eds.). *Principios de Neurociencia*. 4^a ed. McGraw-Hill Interamericana; 2001. p. 472-490.