

Efecto del estrés agudo y de la variación del estímulo masticatorio sobre el dolor nociceptivo somático en un modelo murino

Effect of acute stress and variation of the chewing stimulus on somatic nociceptive pain in a murine model

Elías Ernesto Aguirre-Siancas ^{1,a}, Libertad Alzamora-Gonzales ^{2,b}, Erasmo Honorio Colona-Vallejos ^{2,c}, Eliberto Ruiz-Ramírez ^{3,d}, Rosa María Condori-Macuri ^{2,e}, Nelly Maritza Lam-Figueroa ^{1,f}

¹ Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

² Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

³ Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

^a Doctor en neurociencias. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4713-5511>

^b Doctora en biología. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7425-7453>

^c Magister en biología molecular. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9759-288X>

^d Magister en farmacología. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5340-7168>

^e Bachiller en biología. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2177-3462>

^f Doctora en medicina. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3747-8123>

An Fac med. 2023;84(3):302-306. / DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v84i3.25575>

Correspondencia:

Elías Ernesto Aguirre-Siancas
eaguirres@unmsm.edu.pe

Recibido: 15 de junio 2023

Aprobado: 25 de agosto 2023

Publicación en línea: 30 de septiembre 2023

Conflictos de interés: Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Fuente de financiamiento: Vicerrectorado de Investigación y Postgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Contribuciones de los autores: Elías Ernesto Aguirre-Siancas: conceptualización, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, recursos, supervisión, validación, visualización, redacción de borrador original, revisión y edición. Libertad Alzamora-Gonzales: conceptualización, análisis formal, investigación, metodología, redacción de borrador original, revisión y edición. Erasmo Honorio Colona-Vallejos: conceptualización, análisis formal, investigación, metodología, redacción de borrador original, revisión y edición. Eliberto Ruiz-Ramírez: conceptualización, análisis formal, investigación, metodología, redacción de borrador original, revisión y edición. Rosa María Condori-Macuri: análisis formal, investigación, metodología, redacción de borrador original, revisión y edición. Nelly Maritza Lam-Figueroa: conceptualización, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, recursos, supervisión, validación, visualización, redacción de borrador original, revisión y edición.

Citar como: Aguirre-Siancas E, Alzamora-Gonzales L, Colona-Vallejos E, Ruiz-Ramírez E, Condori-Macuri R, Lam-Figueroa N. Efecto del estrés agudo y de la variación del estímulo masticatorio sobre el dolor nociceptivo somático en un modelo murino. An Fac med. 2023;84(3):302-306. DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v84i3.25575>

302 | An Fac med. 2023;84(3):302-306.

Resumen

Introducción. El estrés agudo se relaciona con la enérgica liberación de catecolaminas, citoquinas y cortisol, las cuales afectan la percepción dolorosa. La masticación estimula neuronas serotoninérgicas, dichas neuronas modulan a las vías neurales del dolor; sin embargo, la relación entre dichas variables aún está en proceso de entendimiento. **Objetivo.** Determinar el efecto del estrés agudo y del estímulo masticatorio sobre el dolor. **Métodos.** Experimento que se desarrolló en el bioterio de la Facultad de Medicina de la UNMSM. 40 ratones Balb/c machos de 8 semanas de edad. Los ratones fueron asignados aleatoriamente en 5 grupos iguales. A: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estímulo masticatorio + estrés. B: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estrés. C: semana 1 estrés y semana 2 sin ningún estímulo. D: semana 1 estímulo masticatorio + estrés y semana 2 sin ningún estímulo. E: control, sin ningún estímulo. El dolor se evaluó en los 5 grupos a los 7 y 14 días mediante la prueba de tiempo de retirada de la cola ante estímulo térmico. **Resultados.** Se empleó la prueba de ANOVA para la evaluación intergrupo, no hallándose diferencia significativa. Mediante la prueba de t student para muestras relacionadas se hizo la evaluación intragrupo donde se encontró diferencia significativa entre los 7 vs los 14 días tanto en el grupo A ($p=0,029$) como en el grupo C ($p=0,03$). **Conclusión.** El efecto del estrés agudo sobre la percepción dolorosa fue disminuida por el estímulo masticatorio en ratones Balb/c.

Palabras clave: Dolor; Estrés Fisiológico; Masticación (Fuente: DeCS BIREME)

Abstract

Introduction. Acute stress is related to the energetic release of catecholamines, cytokines, and cortisol, which trigger pain perception. Chewing stimulates serotonergic neurons, these neurons modulate the neural pathways of pain; however, the relationship between these variables is still in the process of understanding. **Objective.** To determine the effect of acute stress and chewing stimulus on pain. **Methods.** an experiment that was developed in the Faculty of Medicine of the UNMSM. 40 eight-week-old male Balb/c mice were randomly assigned into 5 equal groups. A: week 1 without any stimulus and week 2 chewing stimulus + stress. B: week 1 without any stimulus and week 2 stress. C: week 1 stress and week 2 without any stimulus. D: week 1 masticatory stimulus + stress and week 2 without any stimulus. E: control, without any stimulus. Pain was assessed in the 5 groups at 7 and 14 days using the tail-withdrawal time test before thermal stimulation. **Results.** The ANOVA test was used for the intergroup evaluation, finding no significant difference. Using the t student test for related samples, the intragroup evaluation was made, where a significant difference was found between 7 vs. 14 days, both in group A ($p=0.029$) and in group C ($p=0.03$). **Conclusion.** The effect of acute stress on pain perception was decreased by chewing stimulus in Balb/c mice.

Keywords: Pain; Stress Physiological; Chewing (Source: MeSH NLM)

INTRODUCCIÓN

El dolor nociceptivo somático es el tipo de dolor causado por la estimulación de fibras nerviosas A α mielínica y C amielínica, que se ubican en el sistema tegumentario y en el sistema musculoesquelético superficial y profundo ⁽¹⁾. De forma general, las fibras aferentes nociceptivas primarias llegan hasta el asta dorsal de la médula espinal, donde hacen sinapsis con neuronas medulares que transportan la información, principalmente, hasta el tálamo contralateral y desde allí hacia la corteza frontal y somatosensorial ^(1,2). Por otra parte, hay un complejo circuito neural que conforma el sistema modulador descendente del dolor, dicho circuito parte de áreas corticales y subcorticales donde están implicadas, principalmente, vías serotoninérgicas y opiodérgicas ⁽³⁾.

El estrés es una reacción fisiológica a condiciones reales o potenciales que amenazan la vida y se acompaña de cambios en los sistema nervioso, endocrino e inmune ⁽⁴⁾. El estrés agudo es una reacción casi inmediata ante estímulos nocivos de diversa naturaleza y que activa al sistema nervioso simpático, resultando en la liberación de adrenalina y noradrenalina. La respuesta endocrina estimula al eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA), con la consecuente liberación de cortisol y diversas citoquinas ^(4,5). Dichas vías desencadenan diversas respuestas al estrés que incluyen: variaciones en el umbral del dolor, cambios en la actividad locomotora y en múltiples funciones sistémicas ⁽⁶⁾. El estrés agudo generalmente se asocia con efectos analgésicos; sin embargo, se ha encontrado que puede inducir hiperalgesia con una gran variabilidad interindividual en individuos sanos ^(7,8), aunque generalmente dicha hiperalgesia se ha encontrado en pacientes que tiene previamente una condición inflamatoria crónica ^(6,9-11).

Rechinar los dientes o masticar objetos o chicles se consideran como respuestas ante el estrés; encontrándose que dichos comportamientos pueden atenuar diversas patologías inducidas por los estresores ⁽¹²⁾. Se conoce que la estimulación de las estructuras bucales, como las que intervienen en la masticación,

es llevada hacia el neocortex por el complejo sistema sensorial ascendente, el cual llega hasta la corteza frontal y somatosensorial ⁽¹³⁾. La activación de la corteza somatosensorial, además de diversas áreas superiores, intervienen en la disminución del dolor mediante el sistema modulador descendente ⁽¹⁴⁾. La masticación regularía el procesamiento doloroso por medio de una integración sensorio-motriz a través de mecanismos corticales, además, la masticación podría regular el sistema descendente opioide mediante la vía sensorial trigeminal y la corteza somatosensorial resultando en un efecto antinociceptivo ^(15,16). Así, se ha encontrado que el comportamiento rítmico de la masticación activa neuronas serotoninérgicas lo que mejora la acción de la vía moduladora descendente ⁽¹⁷⁾. Diversos estudios han demostrado que la masticación mejora la respuesta anti nociceptiva tanto en individuos sanos como enfermos ⁽¹⁸⁻²⁰⁾; además de reducir la respuesta a diversos marcadores relacionados con el estrés, como el factor de liberación de corticotropina en el hipotálamo (CRF), el proto-oncogén C-fos y la quinasa forforilada regulada por señal extracelular (pERK) ^(21,22).

A pesar de que algunos estudios concluyen que la masticación disminuye el efecto del estrés agudo sobre la percepción dolorosa, estos estudios son escasos, son heterogéneos en los indicadores que evalúan y son poco recientes. Debido a ello el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del estrés agudo y de la variación del estímulo masticatorio sobre el dolor nociceptivo somático en ratones Balb/c

MÉTODOS

Diseño de estudio

Se realizó un estudio experimental preclínico, realizado en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Población y muestra

Se emplearon 40 ratones macho de 8 semanas de edad de la cepa BALB/c que fueron adquiridos del Centro de Produc-

ción de Animales de Experimentación del Instituto Nacional de Salud. Luego de una semana de ambientación en el bioterio de la Facultad de Medicina de la UNMSM, los animales fueron divididos aleatoriamente en 5 grupos de 8 animales cada uno. El tiempo del experimento duró 2 semanas, los grupos fueron sometidos a los siguientes tratamientos: semana 1 sin ningún estímulo y en la semana 2 estímulo masticatorio + estrés agudo (grupo A), semana 1 sin ningún estímulo y en la semana 2 estrés agudo (grupo B), semana 1 estrés agudo y en la semana 2 sin ningún estímulo (grupo C), semana 1 estímulo masticatorio + estrés agudo y en la semana 2 sin ningún estímulo (grupos D), y sin ningún estímulo, grupo control (grupo E).

Procedimiento para inducir estímulo masticatorio

El estímulo masticatorio fue inducido en los ratones introduciéndolos dentro de la caja de restricción, en la cual se encontraba cada roedor y una varilla de madera que se le permitió roer a cada animal durante la semana 1 en el grupo D, y durante la semana 2 en el grupo A, respectivamente. Dicha varilla se mantuvo durante todo el tiempo del sometimiento al estrés en los grupos indicados, según el procedimiento propuesto por Kubo *et al* ⁽²⁴⁾ (Figura 1A).

Procedimiento para inducir estrés agudo

El estrés agudo fue inducido en cada roedor colocándolo dentro de una caja de poliestireno transparente, de 3 cm de alto, 3 cm de ancho y 8 cm de largo, para restringir su movimiento, pero sin privarle completamente del mismo, según el diseño de Lam-Figueroa *et al* ⁽²³⁾. El estrés por restricción de movimiento fue aplicado durante la semana 1 a los grupos C y D, y durante la semana 2 a los grupos A y D, respectivamente. Dicho procedimiento fue realizado durante 1 hora entre las 08:00 horas y 12:00 horas, una vez al día, como se observa en la figura 1A.

Procedimiento para evaluar el dolor nociceptivo somático

Para evaluar la respuesta al dolor nociceptivo somático se empleó la prueba de tiempo de retirada de la cola de ratón ante estímulo térmico. Dicha prueba consistió en la inmersión de la cola del animal dentro de un recipiente con agua temperada (55 \pm



Figura 1. Procedimientos de Inducción de estrés, estímulo masticatorio y dolor nociceptivo somático en los ratones Balb/c. A: Animales sometidos a estrés por restricción y con las varillas de madera para estimular la masticación. B: Implementos empleados en la evaluación del dolor. C: Primer plano de la cola del animal sumergido en el agua temperada.

1 °C), según el procedimiento de Aguirre-Siancas *et al* (25). La evaluación fue realizada en los 5 grupos experimentales, el día 7 y 14 de iniciado el experimento, como se observa en la figura 1B y 1C. Se contabilizó el tiempo que cada ratón demoró en retirar su cola de la fuente de agua temperada, menores tiempos se relacionan con una mayor percepción y, a la vez, menor umbral al estímulo nociceptivo.

Variables estudiadas

Se evaluó el efecto de las variables independientes: estrés agudo y estímulo masticatorio sobre la variable dependiente: dolor nociceptivo somático. El procedimiento para la medición fue descrito en párrafos previos.

Análisis de datos

Para los análisis estadísticos se empleó el programa SPSS versión 23 para Windows. Debido al comportamiento normal de las variables se aplicó la prueba t de Student para muestras relacionadas y el análisis de varianza (ANOVA) de un factor. El nivel de significancia fue de 0,05.

Aspectos éticos

El protocolo del estudio fue aprobado por el Vicerrectorado de Investigación y Postgrado de la UNMSM con código A20011021 y RR 01686-R-20. La manipulación de los animales se realizó res-

tando las normas internacionales de uso de animales de experimentación de la Office of Animal Care and Use of National Institutes of Health.

RESULTADOS

Se evaluó el dolor nociceptivo somático en los 5 grupos de roedores con la prueba de ANOVA de un factor a los 7 días, obteniendo como promedio y desviación estándar en el grupo A ($3,36 \pm 1,74$), B ($4,51 \pm 1,16$), C ($3,14 \pm 0,9$), D ($3,3 \pm 0,73$) y E ($4 \pm 0,87$), respectivamente (Figura 2).

También se evaluó el dolor en los 5 grupos experimentales con la prueba de ANOVA de un factor a los 14 días, obteniendo como promedio y desviación estándar en el grupo A ($7,20 \pm 3,32$), B ($6,22 \pm 1,41$), C ($5,52 \pm 1,67$), D ($5,36 \pm 1,80$) y E ($7,5 \pm 0,55$), respectivamente (Figura 3).

Se compararon, dentro de cada grupo experimental, las respuestas al estímulo nociceptivo entre los 7 y 14 días, encontrándose aumentos en los tiempos de retirada de la cola, de manera significativa, tanto en el grupo A como en el grupo C, como se detalla en la tabla 1.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, no se encontró diferencia significativa al evaluar a los 5 grupos experimentales entre sí tanto a

Tabla 1. Evaluación del dolor nociceptivo somático dentro de cada grupo experimental entre los 7 y 14 días.

Grupos	Momento de la medición	Tiempo (s) Media (DE)	Valor de p	T a
A	Día 7	3,36 (1,74)	0,029 b	2,85
	Día 14	7,20 (3,32)		
B	Día 7	4,51 (1,16)	0,053	2,4
	Día 14	6,22 (1,41)		
C	Día 7	3,14 (0,90)	0,03 b	2,83
	Día 14	5,52 (1,67)		
D	Día 7	3,30 (0,73)	0,052	2,42
	Día 14	5,36 (1,80)		

A: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estímulo masticatorio + estrés. B: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estrés. C: semana 1 estrés y semana 2 sin ningún estímulo. D: semana 1 estímulo masticatorio + estrés y semana 2 sin ningún estímulo. E: control.

DE: Desviación estándar. T: estadístico T.

^a Prueba t de Student para muestras relacionadas, ^b Diferencia significativa. s: segundos.

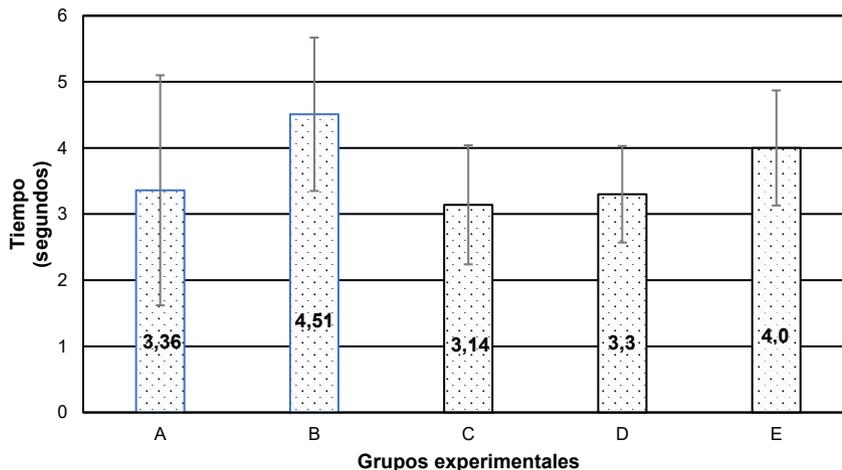


Figura 2. Evaluación del dolor nociceptivo somático en los grupos experimentales a los 7 días. Grupo A: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estímulo masticatorio + estrés. Grupo B: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estrés. Grupo C: semana 1 estrés y semana 2 sin ningún estímulo. Grupo D: semana 1 estímulo masticatorio + estrés y semana 2 sin ningún estímulo. Grupo E: control. Prueba de ANOVA de un factor: 0,13. Estadístico F: 1,93.

los 7 como a los 14 días. Dichos resultados nos indicarían que la percepción del dolor nociceptivo somático no se vio influenciado por alguna de la combinación de las variables independientes. Posiblemente el poco tiempo de exposición a dichas variables o la poca intensidad de estas puedan explicar dichos hallazgos. Lo cual concuerda con lo reportado por Aguirre-Siancas *et al* ⁽²⁶⁾, quienes también

encontraron que el estrés y la masticación no modifican la respuesta al dolor en ratones. Aunque en ese estudio trabajaron un modelo de estrés crónico y emplearon otro tipo de procedimiento para manipular la función masticatoria. Lo cual también nos puede hacer entender que el estrés, ya sea agudo o crónico, no modificaría la respuesta al estímulo nociceptivo en los procedimientos hechos so-

bre los ratones albinos de la cepa Balb/c.

Se encontró diferencia significativa en la evaluación dentro del grupo C. Se sabe que uno de los efectos del estrés agudo es estimular la vía de señalización del factor nuclear kappa-beta (NF- κ B) y de diversas citoquinas pro inflamatorias como la interleuquina 1beta (IL-1 β) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) ^(27,28), las cuales se relacionan con una mayor percepción a estímulos dolorosos ⁽²⁹⁾, lo cual podría explicar, parcialmente, la disminución del umbral a dicho estímulo en los ratones el día 7; sin embargo, dicha respuesta ya no se observó durante la segunda semana al ya retirarse el estrés por restricción.

Dentro del grupo A se encontró que el tiempo de respuesta a los 7 días, donde no se indujo estímulo alguno fue de 3,36 s y a los 14 días dicho tiempo aumentó a 7,20 s induciéndose durante esa segunda semana estrés + estímulo masticatorio. A diferencia del grupo C, donde el estrés aumentó la percepción dolorosa, en el grupo A, al final de la segunda semana, el aumento del tiempo de respuesta se relacionó con un aumento en el umbral de percepción del estímulo nociceptivo. Es importante destacar el rol que el estímulo masticatorio cumplió al disminuir el efecto del estrés sobre la percepción dolorosa durante esa segunda semana. Estas observaciones encontradas en la prueba comportamental que se empleó se pueden entender, porque hay vías serotoninérgicas activadas por la estimulación masticatoria ⁽²⁰⁾, además la masticación reduce el número de células positivas al CRF en el núcleo paraventricular del hipotálamo, los niveles de c-fos y la pERK, marcadores que aumentan después del estrés ⁽²¹⁾.

En la literatura no se ha encontrado trabajos que estudien nuestras variables independientes mediante la prueba de tiempo de retirada de la cola de ratón ante estímulo térmico; sin embargo, sí se reportan algunos trabajos que evalúan la masticación y el estrés mediante pruebas hematológicas e inmunohistoquímicas. Yamada *et al*, ⁽²²⁾ y Onuki *et al*, ⁽³⁰⁾ encontraron en roedores que la estimulación masticatoria, mediante el empleo de una varilla de madera, similar al empleado en el presente trabajo, bajo el sometimiento

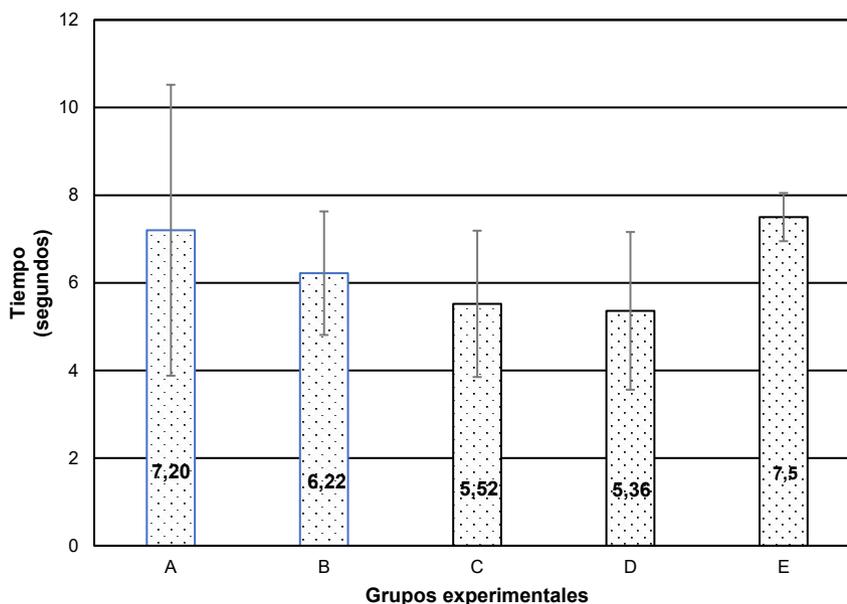


Figura 3. Evaluación del dolor nociceptivo somático en los grupos experimentales a los 14 días. Grupo A: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estímulo masticatorio + estrés. Grupo B: semana 1 sin ningún estímulo y semana 2 estrés. Grupo C: semana 1 estrés y semana 2 sin ningún estímulo. Grupo D: semana 1 estímulo masticatorio + estrés y semana 2 sin ningún estímulo. Grupo E: control. Prueba de ANOVA de un factor: 0,18. Estadístico F: 1,69.

al estrés agudo por restricción disminuyó la pERK de la sustancia gris periacueductal y de la corteza insular, respectivamente. Dichos estudios coinciden con el nuestro en que la estimulación masticatoria disminuye los efectos del estrés, aunque en nuestro trabajo empleamos una prueba comportamental, como ya se fue indicado, mientras en los estudios referenciados emplearon indicadores inmunohistoquímicos de áreas relacionadas con el procesamiento del dolor.

En humanos, Okayasu, *et al*⁽¹⁹⁾ encontraron que el umbral para el estímulo nociceptivo aumentó en el grupo que masticó goma de mascar sobre el control que no masticó, mientras Kamiya *et al*⁽²⁰⁾ refieren que la masticación de goma de mascar disminuyó la respuesta nociceptiva y aumentó los niveles sanguíneos de serotonina. Ambos estudios coinciden con lo que encontramos en el grupo A, aunque los trabajos referenciados emplean diferentes paradigmas para estimular la masticación y para evaluar la percepción dolorosa, aparte que son realizados en seres humanos a diferencia de nuestro trabajo.

Dentro de las limitaciones, podemos indicar que el empleo de pruebas hematológicas e inmunohistoquímicas hubiesen permitido una visión más integral y profunda de los fenómenos estudiados. Se concluye que la masticación disminuye el efecto del estrés sobre la respuesta al estímulo nociceptivo, como se encontró durante la segunda semana en el grupo A y, por otra parte, que el estrés aumentó la percepción del estímulo nociceptivo como se encontró durante la primera semana en el grupo C.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Yam M, Loh Y, Tan C, Khadijah A, Abdul N y Basir R. General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(8): 2164. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19082164>
- Wen S, Muñoz J, Mancilla M, Bomhardt T, Riveros A, Iturriaga V. Mecanismos de Modulación Central del Dolor: Revisión de la Literatura. *Int J Morphol*. 2020; 38(6): 1803-1809. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000601803>.
- Goksan S, Baxter L, Moultrie F *et al*. The influence of the descending pain modulatory system on infant pain-related brain activity. *Elife*. 2018;7:e37125. DOI: <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.37125>.
- Chu B, Marwaha K, Sanvictores y Avers D. Physiology, Stress Reaction. *StatPearls*. Treasure Island. Florida. EEUU. 2023. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541120/>
- Qing H, Desrouleaux R, Israni-Winger K, Mi-neur Y, Fogelman N, Zhang C *et al*. Origin and Function of Stress-Induced IL-6 in Murine Models. *Cell*. 2020; 182(2): 372-387.e14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.054>.
- Ahmad A, Zakaria R. Pain in Times of Stress. *Malays J Med Sci*. 2015; 22: 52-61.
- Reinhardt T, Kleindienst N, Treede R, Bohus M, Schmahl C. Individual modulation of pain sensitivity under stress. *Pain Med*. 2013;14(5):676-685. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/pme.12090>
- Crettaz B, Marziniak M, Willeke P, Young P, Hellhammer D, Stumpf A *et al*. Stress-induced allodynia-evidence of increased pain sensitivity in healthy humans and patients with chronic pain after experimentally induced psychosocial stress. *PLoS one*. 2013; 8(8), e69460. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069460>.
- Löffler M, Schneider P, Schuh-Hofer S, Kamping S, Usai K, Treede R *et al*. Stress-induced hyperalgesia instead of analgesia in patients with chronic musculoskeletal pain. *Neurobiol Pain*. 2022; 13:100110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ynpai.2022.100110>.
- Zetterman T, Markkula R, Partanen J, Miettinen T, Estlander A, Kalso E. Muscle activity and acute stress in fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord*. 2021;22(1):183. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12891-021-04013-1>.
- Araújo DM, Costa YM, de Quevedo HM, Bonjardim LR, Rodrigues Conti PC. Experimental Psychological Stress on Quantitative Sensory Testing Response in Patients with Temporomandibular Disorders. *J Oral Facial Pain Headache*. 2018;32(4):428-435. DOI: <https://doi.org/10.11607/ofph.2046>.
- Aguirre-Siancas EE. Bases neurocientíficas de la función masticatoria y su efecto sobre el estrés y las funciones cognitivas. *Rev Chil Neuropsiquiatr*. 2017; 55: 9-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272017000100002>.
- Aguirre Siancas, EE. La memoria y el aprendizaje y su relación con la masticación. *Rev Mex Neuroci*. 2014; 15(6): 351-354.
- Lv Q, Wu F, Gan X, Yang X, Zhou L, Chen J *et al*. The Involvement of Descending Pain Inhibitory System in Electroacupuncture-Induced Analgesia. *Front Integr Neurosci*. 2019;13: 38. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnint.2019.00038>
- Ono Y, Yamamoto T, Kubo K, Onozuka M. Occlusion and brain function: mastication as a prevention of cognitive dysfunction. *J Oral Rehabil*. 2010;37(8):624-640. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2010.02079.x>.
- Ogawa A, Morimoto T, Hu J, Tsuboi Y, Tashiro A, Nakagawa H *et al*. Hard-food mastication suppresses complete Freund's adjuvant-induced nociception. *Neuroscience*. 2003; 120: 1081-92. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00214-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00214-8)
- Mohri Y, Fumoto M, Sato-Suzuki I, Umino M, y Arita H. Prolonged rhythmic gum chewing suppresses nociceptive response via serotonergic descending inhibitory pathway in humans. *Pain* 2005; 118: 35-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.07.009>
- Sekine N, Okada-Ogawa A, Asano S, Takanezawa D, Nishihara C, Tanabe N *et al*. Analgesic effect of gum chewing in patients with burning mouth syndrome. *J Oral Sci*. 2020;62(4):387-392. DOI: <https://doi.org/10.2334/josnusd.19-0501>.
- Okayasu I, Komiya O, Yoshida N, Oi K, De Laat A. Effects of chewing efforts on the sensory and pain thresholds in human facial skin: A pilot study. *Arch Oral Biol*. 2012; 57: 125-1255. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.02.013>.
- Kamiya K, Fumoto M, Kikuchi H, Sekiyama T, Mohri-Lkuzawa Y, Umino M *et al*. Prolonged gum chewing evokes activation of the ventral part of prefrontal cortex and suppression of nociceptive responses: involvement of the serotonergic system. *J Med Dent Sci*. 2010;57(1):35-43.
- Sasaguri K, Yamada K, Yamamoto T. Uncovering the neural circuitry involved in the stress-attenuation effects of chewing. *Jpn Dent Sci Rev*. 2018; 54(3): 118-126. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2018.03.002>
- Yamada K, Narimatsu Y, Ono Y, Sasaguri K, Onozuka M, Kawata T *et al*. Chewing suppresses the stress-induced increase in the number of pERK-immunoreactive cells in the periaqueductal grey. *Neurosci Lett*. 2015; 599: 43-48. 33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.05.023>
- Lam-Figueroa N, Alzamora-Gonzales L, Colona-Vallejos E, Arone-Farfán R, Ruiz-Ramirez E., Crispín-Huamani L, *et al*. Influencia del tipo de masticación sobre el estrés crónico en los niveles leucocitarios. *Rev Chil Neuropsiquiatr*. 2020; 58(3): 221-229. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0717-92272020000300221>
- Kubo K, Linuma M y Chen H. Mastication as a stress-coping behavior. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 876409. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/876409>
- Aguirre E, Lam N, Delgado J, Ruiz E, Portilla O, Crispin L, *et al*. Determination of the temperature causing a nociceptive response in the tail of albino BALB/c mice. *Neurologia (Engl Ed)*. 2021;36(8):584-588. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2020.05.002>.
- Aguirre-Siancas E, Seclén-Ubillús Y, Ruiz-Ramírez E, Portilla-Flores O, Crispín-Huamani L, Alarcón-Velásquez L, *et al*. Influence of chronic stress and chewing over pain. *Rev. Ecuat. Neurol*. 2019; 28(2): 13-18.
- Marsland A, Walsh C, Lockwood K y John-Henderson N. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*. 2017; 64: 208-219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.01.011>
- Boyle C, Cole S, Irwin M, Eisenberger N y Bower J. The role of inflammation in acute psychosocial stress-induced modulation of reward processing in healthy female adults. *Brain Behav Immun Health*. 2023; 28: 100588. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2023.100588>.
- De Magalhães S, Manzo L, de Faria F, de Oliveira-Fusaro M, Nishijima C, Vieira W, *et al*. Inflammatory pain in peripheral tissue depends on the activation of the TNF- α type 1 receptor in the primary afferent neuron. *Eur J Neurosci*. 2021;53(2):376-389. DOI: <https://doi.org/10.1111/ejn.14985>.
- Onuki M, Yamamoto T, Sasaguri K, Yamada K, Okada N, Kawata T. Chewing ameliorates the effects of restraint stress on pERK-immunoreactive neurons in the rat insular cortex. *Neurosci Lett*. 2018; 674: 60-65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.03.008>.