

Efecto antiinflamatorio del ácido cafeico sobre la pulpitis en un modelo experimental en Cobayos.

Anti-inflammatory effect of caffeic acid in an experimental model of pulpitis in guinea pigs.

Juan Daniel Morones Alba,* Salvador Israel Macías Hernández,**
Guadalupe Cleva Villanueva López,*** Mariana Aragón Flores[†]

RESUMEN

Antecedentes: El ácido cafeico tiene propiedades antiinflamatorias a través de la modulación de la cascada metabólica del ácido araquídónico y de respuestas inmunológicas en modelos experimentales, efectos que pudieran replicarse en sitios de inflamación local como en la pulpitis reversible aguda, cuya causa principal es la caries dental. **Objetivo:** Caracterizar las propiedades antiinflamatorias del ácido cafeico y compararlas con las de la indometacina en un modelo de pulpitis experimental en cobayos. **Material y métodos:** Estudio experimental en dientes de 16 cobayos machos, divididos en: grupo I sin pulpitis ni tratamiento, grupo II pulpitis sin tratamiento, grupo III (experimental) pulpitis y ácido cafeico y grupo IV (comparativo) pulpitis e indometacina. Los especímenes fueron sacrificados a las 24 horas de haberse provocado la pulpitis. El análisis histopatológico se realizó calificando cualitativamente el infiltrado inflamatorio. Para el análisis estadístico se obtuvo la media y desviación estándar y se utilizó la prueba de Wilcoxon, U de Mann Whitney y Kruskal-Wallis. **Resultados:** El ácido cafeico inhibió de forma completa macrófagos y de forma parcial linfocitos y polimorfonucleares ($p < 0.05$), sin diferencia estadísticamente significativa con indometacina ($p > 0.05$). **Conclusiones:** El ácido cafeico fue efectivo al disminuir el proceso inflamatorio de forma comparable a la indometacina al inhibir linfocitos, neutrófilos polimorfonucleares y fundamentalmente macrófagos. Es necesario realizar estudios en humanos, ya que ofrece una alternativa viable por sus propiedades antiinflamatorias para procesos locales agudos como en la pulpitis dental.

Palabras clave: Ácido cafeico, pulpitis, inflamación, pulpa dental, cobayo.

ABSTRACT

Background: In experimental models, caffeic acid has proven to have anti-inflammatory properties through the modulation of the arachidonic acid metabolic cascade and of immune responses, effects which could be replicated in local inflammation sites, such as in the case of acute reversible pulpitis, the primary cause of which is dental caries. **Objective:** To characterize the anti-inflammatory properties of caffeic acid and compare these with those of Indomethacin in an experimental model of pulpitis in guinea pigs. **Material and methods:** An experimental study involving the teeth of 16 male guinea pigs was performed. These were randomly assigned to one of four groups: Group I: No pulpitis or treatment; Group II: Pulpitis untreated; Group III (experimental): Pulpitis treated with caffeic acid; and Group IV (comparative): Pulpitis treated with Indomethacin. The specimens were sacrificed at 24 hours after pulpitis induction. A qualitative histopathological analysis was performed by quantifying the inflammatory infiltrate. For the statistical analysis, the mean and standard deviation were obtained and the Wilcoxon, Mann-Whitney U, and Kruskal-Wallis tests used. **Results:** Caffeic acid completely inhibited macrophages and partially inhibited lymphocytes and polymorphonuclear cells ($p < 0.05$), with no statistically significant difference with Indomethacin ($p > 0.05$). **Conclusions:** The effectiveness of caffeic acid in reducing the inflammatory process was comparable to that of indomethacin, by inhibiting lymphocytes, polymorphonuclear neutrophils and, above all, macrophages. Studies are needed in humans, given that caffeic acid offers a viable alternative for treating local inflammatory processes such as dental pulpitis.

Key words: Caffeic acid, pulpitis, inflammation, dental pulp, guinea pig.

INTRODUCCIÓN

La pulpitis es la inflamación de la pulpa dental causada por estímulos externos nocivos como la caries dental¹ u otros factores traumáticos, mecánicos, térmicos, químicos o tóxicos² y dependiendo de la fase en la que se encuentre el daño pulpar, puede ser reversible o irreversible.³

En la pulpitis reversible aguda el proceso inflamatorio produce aumento en la permeabilidad vascular y de mediadores

* Cirujano Oral y Maxilofacial. Egresado de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, División de Rehabilitación Ortopédica, Instituto Nacional de Rehabilitación, Ciudad de México, México.

** División de Rehabilitación Ortopédica. Instituto Nacional de Rehabilitación. Ciudad de México, D.F.

*** Departamento de Farmacología. Escuela Médico Militar. Profesor Investigador Titular «B». Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional (IPN). Departamento de Postgrado e Investigación. Ciudad de México, México.

[†] Jefe del Departamento de Anatomía Patológica. Hospital Central Militar. Secretaría de la Defensa Nacional (SEDENA). Ciudad de México, México.

Recibido: Noviembre 2015. Aceptado para publicación: Junio 2016.

químicos como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, óxido nítrico, histamina y citocinas; hay daño endotelial por necrosis secundaria a lesiones graves, patógenos o daño directo de los neutrófilos, lo que ocasiona el daño pulpar y síntomas como dolor intenso localizado o irradiado.⁴⁻⁸

La acumulación de células inflamatorias en la pulpitis es ocasionada principalmente por la liberación de leucotrienos^{9,10} y prostaglandinas, que modifican las funciones de los linfocitos T y B, además de contribuir en forma importante al desarrollo de los signos y síntomas de la inflamación.^{8,11,12} Ambas sustancias son sintetizadas a partir del ácido araquidónico a través de la vía de las lipooxigenasas y ciclooxigenasas.

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) tienen un efecto en la inflamación odontogénica, inhibiendo la vía de la ciclooxigenasa (COX). La indometacina es un AINE que inhibe la función de la COX y consecuentemente la síntesis de prostaglandinas.^{13,14} Una de las desventajas del uso de los AINES es que producen efectos sistémicos adversos potencialmente graves: gastrointestinales (gástritis erosiva, úlcera gástrica, sangrado de tubo digestivo alto), cardiovasculares (aumento de la tensión arterial), alteraciones hidroelectrolíticas, nefrotoxicidad (nefritis intersticial, necrosis papilar, síndrome nefrótico o insuficiencia renal aguda), hepatotoxicidad, entre otros, tanto de forma inmediata como a corto, mediano y largo plazo.¹⁵

El ácido cafeico es un compuesto fenólico encontrado en vegetales, frutas, hierbas y suplementos dietéticos^{16,17} que ha demostrado tener actividades biológicas tales como efectos antiinflamatorios, antibacteriales, antivirales, antitumorales y antioxidativos mediante la modulación de distintas respuestas inmunológicas en modelos experimentales.¹⁶⁻²⁶ No se han demostrado efectos adversos de su uso *in vitro* o *in vivo*, por lo que resulta una sustancia inmunomoduladora potencial que podría ser útil en patologías inflamatorias localizadas como la pulpitis reversible aguda sin los efectos secundarios de los AINEs.

El objetivo de este estudio fue caracterizar el efecto del ácido cafeico en la inflamación y comparar dicho efecto con el de la indometacina en un modelo experimental de pulpitis en cobayos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental en un modelo animal. Se utilizaron 16 cobayos machos de 300 a 350 g de peso, alimentados con conejina y agua *ad libitum*, divididos aleatoriamente en 4 grupos de cuatro especímenes cada uno.

Los grupos se dividieron de la siguiente manera: grupo I sin pulpitis ni tratamiento (grupo control negativo); grupo II pulpitis sin tratamiento (grupo control positivo); grupo

III pulpitis con administración del ácido cafeico (grupo experimental) a dosis de 15 mg/kg de peso disuelto en 1 mL de solución de bicarbonato de sodio al 3% por vía intraperitoneal una hora antes de la pulpitis y dos dosis más cada 12 horas; grupo IV pulpitis con administración de indometacina (grupo comparativo) a dosis de 7 mg/kg de peso, disuelto en 1 mL de solución de bicarbonato de sodio por vía intraperitoneal administrado una hora antes de la pulpitis y dos dosis más cada 12 horas.

La pulpitis experimental en los grupos II, III y IV se produjo una hora después de aplicar los fármacos de acuerdo con el grupo correspondiente, mediante anestesia intraperitoneal con pentobarbital sódico a razón de 15 mg/kg de peso. Una vez anestesiados se realizaron cavidades clase V en el tercio cervical de la cara vestibular de cada diente con motor de baja velocidad y fresa No. 702, sin comunicación directa con la pulpa dental, depositando ácido ortofosfórico con torunda de algodón sin retirarla, obturando la cavidad con fosfato de zinc y eugenol como cemento provisional.

En todos los casos los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico aplicado por vía intraperitoneal 24 horas después de haber provocado la pulpitis experimental. Se fijó al animal en una mesa de experimentación, se localizó mediante disección y ligadura la arteria aorta descendente y la vena yugular externa derecha. Se abrió la caja torácica y se introdujo solución amortiguadora al 10% de formol en el ventrículo izquierdo, se seccionó la yugular externa permitiendo el sangrado (Figura 1).

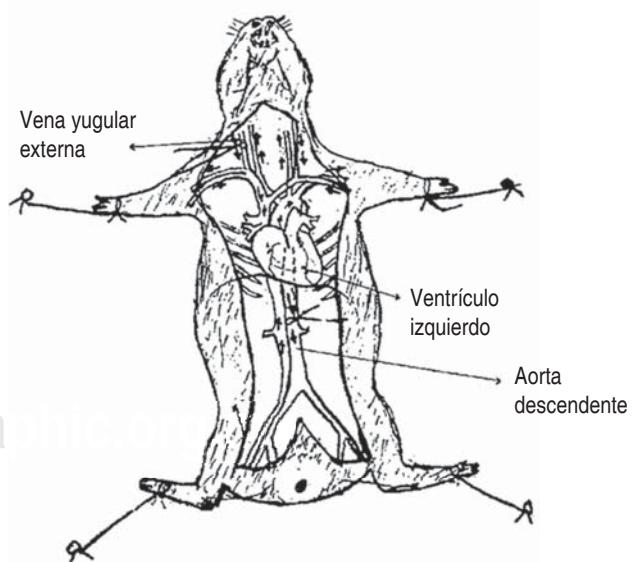


Figura 1. Localización y perfusión de formol al 10% en ventrículo izquierdo hacia cuello y cabeza del espécimen.

Después de infundir 10 mL de formol amortiguado se procedió a la extracción de los cuatro incisivos de la siguiente manera: se disecó el maxilar y se cortó con un osteótomo para obtener el bloque óseo que contenía los dientes, incluyendo sus raíces. Posteriormente con un alveolotomo se cortó la mayoría del bloque de hueso sin maltratar los dientes y con motor de baja y fresa se eliminaron los fragmentos óseos más pequeños hasta obtener la totalidad del diente con su raíz. El procedimiento en la mandíbula para extraer los dientes con sus raíces fue igual que el del maxilar. Cada incisivo obtenido se fijó en formol al 10% para el análisis histopatológico mediante la inclusión en parafina y tinción con hematoxilina-eosina.²⁷ Los cortes fueron observados en microscopio óptico con objetivo 100x por dos patólogos independientes y cegados.

Se observó la totalidad de la capa de odontoblastos, la presencia de infiltrado inflamatorio y las características de dicho infiltrado, se calificó de forma ordinal de 0 a 4 cruces y se reportaron las características de dicho infiltrado como ninguno, leve, moderado, severo y muy severo, respectivamente.

Análisis estadístico

Se calculó la media y desviación estándar de los hallazgos obtenidos, para la comparación intragrupo se utilizó la prueba de Wilcoxon e intergrupos U de Mann Whitney y Kruskall-Wallis, el nivel de significancia alfa considerado fue de < 0.05.

RESULTADOS

Se analizó la fiabilidad de las mediciones mediante la concordancia inter e intraobservador, obteniendo un índice kappa de 0.83 para el interobservador y de 0.90 para el intraobservador.

En el grupo I se apreciaron linfocitos y macrófagos en cantidades normales, sin infiltrado leucocitario. En el

grupo II se observó infiltrado inflamatorio formado por macrófagos, linfocitos y neutrófilos significativamente mayor que en el grupo I ($p < 0.001$). Por lo que se corroboró que el modelo experimental fue válido respecto a la inflamación pulpar (*Cuadro I y II*).

En el grupo III se presentó infiltrado inflamatorio leve con inhibición completa en macrófagos e incompleta en neutrófilos y linfocitos, significativamente menor que el grupo II ($p < 0.05$). En el grupo IV se apreció inhibición completa de linfocitos y macrófagos e incompleta de neutrófilos ($p < 0.001$).

Al realizar la comparación por estirpes estudiadas se observó que en cuanto al infiltrado de neutrófilos con respecto al grupo I hubo diferencias significativas de inhibición, aunque no total en el grupo III y en el grupo IV ($p < 0.02$). En cuanto al infiltrado de linfocitos con respecto al grupo I se encontraron diferencias significativas de inhibición parcial en el grupo III ($p < 0.05$), pero total en el grupo IV ($p < 0.001$). En cuanto al infiltrado de macrófagos con respecto al grupo I, también hubo diferencias significativas de inhibición respecto al grupo III y grupo IV ($p < 0.05$).

Al comparar el grupo III contra el grupo IV no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al infiltrado inflamatorio ($p > 0.05$), pero con diferencias significativas al comparar ambos grupos con el grupo I ($p < 0.01$) (*Cuadro I y II*).

DISCUSIÓN

El modelo de experimentación que provocó pulpitis dental en cobayos resultó válido respecto a la inflamación aguda, ya que el hallazgo más importante en cuanto al fenómeno leucocitario es la conglomeración de neutrófilos y macrófagos en el sitio de la lesión. Al inducir la pulpitis experimental, se observó un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por macrófagos, y en forma menos importante, por neutrófilos.^{4-8,11,12,21}

Cuadro I. Se expresan la media y desviación estándar en todos los casos la n = 4.

Grupo	Neutrófilos	Linfocitos	Macrófagos	Total
I	0	0.25 ± 0.14	0.12 ± 0.07	0.37 ± 0.21
II	0.43 ± 0.15	1.10 ± 0.22	1.20 ± 0.64	2.73 ± 1.01
III	0.14 ± 0.08	0.80 ± 0.22	0.37 ± 0.23	1.31 ± 0.53
IV	0.12 ± 0.07	0.25 ± 0.25	0.18 ± 0.18	0.55 ± 0.5

I = grupo control negativo; II = pulpitis (grupo control positivo); III = pulpitis + ácido cafeico (15 mg/kg/12 h); IV = pulpitis + indometacina (7 mg/kg/12 h).

Cuadro II. Infiltrado inflamatorio leve con inhibición completa en macrófagos en el grupo III significativamente menor que el grupo II y sin diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo IV.

Grupo	Macrófagos (migración)	Linfocitos (migración)	Neutrófilos (migración)	Nivel de significancia
I	No	No	No	
II	Sí	Sí	Sí	$p < 0.001$
III	No	Parcial	Parcial	$p < 0.05$
IV	No	No	Parcial	$p > 0.05$

La indometacina inhibe la liberación de leucotrienos y otros eicosanoides como prostaglandinas y tromboxanos, lo que explica la inhibición de la migración de macrófagos, linfocitos y neutrófilos (en menor cantidad) por sus efectos sobre el ácido araquidónico tal como se muestra en este modelo.

Los linfocitos tienen un papel muy limitado en la etapa aguda de la inflamación, pero es la principal célula en las reacciones crónicas, principalmente las de origen inmunológico; en este estudio la inhibición de linfocitos fue considerable en ambos grupos, completa en el grupo de indometacina y no total en el de ácido cafeico. La inhibición de neutrófilos, principal célula descrita en fases iniciales del proceso inflamatorio agudo fue comparable en el grupo de ácido cafeico e indometacina, aunque en ninguno de los dos se logró inhibición completa.¹

El ácido cafeico se conoce como un inhibidor de la lipooxigenasa y que de esta manera disminuye la formación de los metabolitos quimiotácticos del ácido araquidónico.^{9,15,28} En este estudio se detectó una disminución importante en macrófagos y neutrófilos, efecto que corresponde a las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes del ácido cafeico^{17,19,23,25,26} y disminución de la migración de linfocitos.^{20,24,26,29,30-32}

El efecto de este compuesto continúa estudiándose en mastocitos, macrófagos, osteoclastos y en diferentes áreas de oncología con adecuados resultados, por lo que resulta necesario realizar estudios de bioseguridad y comenzar con estudios en humanos para observar su potencial beneficio y utilidad en el proceso inflamatorio de la pulpitis reversible aguda y por ende el dolor con vías de administración tópica (como el caso del *Pulpa dentis D30*)³³ o sistémica.

CONCLUSIONES

La inflamación producida por el ácido ortofosfórico después de 24 horas de haber sido aplicado en cavidades clase V en la corona de los dientes de los animales correspondió a un patrón agudo con participación de la respuesta inmunológica.

La indometacina a la dosis y por la vía administrada suprimió completamente el infiltrado inflamatorio, siendo los macrófagos y linfocitos los componentes principales.

El ácido cafeico inhibió parcialmente la inflamación pulpar producida por el ácido ortofosfórico, actuando principalmente en neutrófilos y macrófagos.

El ácido cafeico se convierte en un tratamiento potencial de la pulpitis aguda reversible en humanos, con la ventaja de ser administrado localmente y de tener un efecto positivo localizado, sin los posibles efectos secundarios indeseados de otros antiinflamatorios.

Requisitos éticos en experimentación animal

Se siguieron los requisitos éticos de la Declaración de la WMA sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica.

Agradecimientos

Al Gral. Brig. Patólogo Pedro Rodríguez Jurado, por su participación en la validación de la información de las observaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Holt CI, Hutchins MO, Pileggi R. A real time quantitative PCR analysis and correlation of COX-1 and COX-2 enzymes in inflamed dental pulps following administration of three different NSAIDs. *J Endod.* 2005; 31 (11): 799-804.
- López-Marcos JF. Etiología, clasificación y patogenia de la patología pulpar y periapical. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004; 9 Suppl: S52-62.
- Dabuleanu M. Pulpitis (reversible/irreversible). *J Can Dent Assoc.* 2013; 79: d90.
- Pérez RAO. El estomatólogo: su relación con el dolor y la sangre. La Habana: Editorial Ciencias Médicas 2008, p. 122.
- Abbas AB, Lichtman AH. Ch 2 Innate immunity. Basic immunology. Functions and disorders of the immune system. 3th ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier 2009, p. 20.
- JOE Editorial Board. Pulpal and periradicular diagnosis: an online study guide. *J Endod.* 2008; 34 (5 Suppl): 45-52.
- García CL, Rodríguez RO, Calzado SM. Bases morfolisiopatológicas de la respuesta inflamatoria aguda pulpar. MEDISAN. 2011; 15 (11): 1647.
- McGiff JC. Arachidonic acid metabolism. *Prev Med.* 1987; 16 (4): 503-509.

9. Feuerstein G, Hallenbeck JM. Leukotrienes in health and disease. FASEB J. 1987; 1 (3): 186-192.
10. Hirafuji M, Ogura Y. The effects of colchicina on prostaglandin 12 and thromboxane A2 biosynthesis in the rat dental pulp. Arch Oral Biol. 1988; 33 (5): 311-315.
11. Greaves MW. Inflammation and mediators. Br J Dermatol. 1988; 119 (4): 419-426.
12. Halushka PV, Lefer AM. Thromboxane A2 in health and disease. Fed Proc. 1987; 46 (1): 131-132.
13. Petkov V, Radomirov R. Influence of indomethacin and aspirin on the contractile effects of prostaglandin F2alpha (PGF2alpha) at different Ca++ concentrations (experiments on guinea-pig ileum). Acta Physiol Pharmacol Bulg. 1977; 3 (3): 18-23.
14. Petrini M, Ferrante M, Ciavarelli L, Brunetti L, Vacca M, Spoto G. Prostaglandin E2 to diagnose between reversible and irreversible pulpitis. Int J Immunopathol Pharmacol. 2012; 25 (1): 157-163.
15. Nagi R, Yashoda Devi BK, Rakesh N, Reddy SS, Patil DJ. Clinical implications of prescribing nonsteroidal anti-inflammatory drugs in oral health care--a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015; 119 (3): 264-271.
16. Yang WS, Jeong D, Yi YS, Park JG, Seo H, Moh SH et al. IRAK1/4-targeted anti-inflammatory action of caffeic acid. Mediators Inflamm. 2013; 2013: 518183.
17. Tolba MF, Omar HA, Azab SS, Khalifa AE, Abdel-Naim AB, Abdel-Rahman SZ. Caffeic acid phenethyl ester: a review of its antioxidant activity, protective effects against ischemia-reperfusion injury and drug adverse reactions. Crit Rev Food Sci Nutr. 2016; 56 (13): 2183-2190.
18. Raj AS, Heddle JA, Newmark HL; Katz, M. Caffeic acid as an inhibitor of DMBA-induced chromosomal breakage in mice assessed by bone-marrow micronucleus test. Mutat Res. 1983; 124 (3-4): 247-253.
19. Koshihara Y, Neichi T, Murota S, Lao A, Fujimoto Y, Tatsuno T. Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. Biochim Biophys Acta. 1984; 792 (1): 92-97.
20. Ha J, Choi HS, Lee Y, Lee ZH, Kim HH. Caffeic acid phenethyl ester inhibits osteoclastogenesis by suppressing NF kappaB and downregulating NFATc1 and c-Fos. Int Immunopharmacol. 2009; 9 (6): 774-780.
21. Gupta SC, Kim JH, Prasad S, Aggarwal BB. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. Cancer Metastasis Rev. 2010; 29 (3): 405-434.
22. Rajendra PN, Karthikeyan A, Karthikeyan S, Reddy BV. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. Mol Cell Biochem. 2011; 349 (1-2): 11-19.
23. Yim SH, Kim HJ, Park SH, Kim J, Williams DR, Jung DW et al. Cytotoxic caffeic acid derivatives from the rhizomes of *Cimicifuga heracleifolia*. Arch Pharm Res. 2012; 35 (9): 1559-1615.
24. Morin P Jr, Ferguson D, LeBlanc LM, Hébert MJ, Paré AF, Jean-François J et al. NMR metabolomics analysis of the effects of 5-lipoxygenase inhibitors on metabolism in glioblastomas. J Proteome Res. 2013; 12 (5): 2165-2176.
25. Zhang M, Zhou J, Wang L, Li B, Guo J, Guan X et al. Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-6 and IL-1 β levels and ameliorates skin edema in acute and chronic model of cutaneous inflammation in mice. Biol Pharm Bull. 2014; 37 (3): 347-354.
26. Liu M, Song S, Li H, Jiang X, Yin P, Wan C et al. The protective effect of caffeic acid against inflammation injury of primary bovine mammary epithelial cells induced by lipopolysaccharide. J Dairy Sci. 2014; 97 (5): 2856-2865.
27. Vejar-Alba I, Saucedo-Martin GR, Villanueva-Lopez GC, Morones-Alba JD. Efectos de la colchicina e indometacina en la pulpitis producida experimentalmente en el cobayo. Rev Snd Mil. 1994; 48 (5): 105-109.
28. dos Santos JS, Monte Alto Costa A. Caffeic acid phenethyl ester improves burn healing in rats through anti-inflammatory and antioxidant effects. J Burn Care Res. 2013; 34 (6): 682-688.
29. Ilhan A, Akyol O, Gurel A, Armutcu F, Iraz M, Oztas E. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester against experimental allergic encephalomyelitis induced oxidative stress in rats. Free Radic Biol Med. 2004; 37: 386-394.
30. Orban Z, Mitsiades N, Burke TR Jr, Tsokos M, Chrousos GP. Caffeic acid phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates nuclear factor kappa B and suppresses acute inflammation. Neuropathol Appl Immunobiol. 2000; 7: 99-105.
31. Wang LC, Lin YL, Liang YC, Yang YH, Lee JH, Yu HH et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester on the functions of human monocyte derived dendritic cells. BMC Immunol. 2009; 10: 39.
32. Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). Exp Ther Med. 2015; 9 (5): 1582-1588.
33. Hamre HJ, Mittag I, Glockmann A, Kiene H, Tröger W. Pulpa dentis D30 for acute reversible pulpitis: A prospective cohort study in routine dental practice. Altern Ther Health Med. 2011; 17 (1): 16-21.

Correspondencia:

Dr. Juan Daniel Morones Alba
 Calz. México Xochimilco Núm. 289
 Col. Arenal de Guadalupe, 14389
 Tlalpan, Ciudad de México
 E-mail: drmoronesa@hotmail.com