



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS Y DE LA SALUD**

**TESIS**

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO Y ANTIOXIDANTE  
DE LA ICARINA EN LA PERIODONTITIS  
INDUCIDA EN UN MODELO DE RATAS WISTAR**

Para obtener el título de  
**Maestra en Ciencias Biomédicas y de la  
Salud**

**PRESENTA**

**C.D. Daniela Mendoza Juárez**

**Director (a)**

**Dr. Manuel Sánchez Gutiérrez**

**Codirector (a)**

**M. en C. Alelí Julieta Izquierdo Vega**

**Comité tutorial**

**Dra. Jeannett Alejandra Izquierdo Vega  
Dr. Eduardo Osiris Madrigal Santillán**

Pachuca de Soto, Hidalgo, México., agosto 2025



# Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias de la Salud

School of Medical Sciences

Área Académica de Medicina

Department of Medicine

28/07/2025

Asunto: Autorización de impresión

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**  
**Directora de Administración Escolar**  
**Presente.**

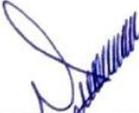
El Comité Tutorial de la **TESIS** del programa educativo de posgrado titulada "**Efecto Antiinflamatorio y Antioxidante de la Icarina en la Periodontitis Inducida en un Modelo de Ratas Wistar**", realizado por la sustentante **Daniela Mendoza Juárez**, con número de cuenta 334254 perteneciente al programa de **Maestría en Ciencias Biomédicas y de la Salud**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

### AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

**Atentamente**  
**"Amor, Orden y Progreso"**  
**Pachuca, Hidalgo a 28 de julio del 2025**

El Comité Tutorial

  
Dr. Manuel Sánchez Gutiérrez  
Director

  
Dra. Jeannett Alejandra Izquierdo Vega  
Miembro del comité

  
Dra. Alejandra Julieta Izquierdo Vega  
Codirectora

  
Dr. Eduardo Osiris Madrigal Santillán  
Miembro del comité



Circuito ex-Hacienda la Concepción s/n Carretera  
Pachuca Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo,  
México. C.P.42168  
Teléfono: 52(771)7172000 Ext. 41556 y 41557  
medicina@uaeh.edu.mx

"Amor, Orden y Progreso"



2025



uaeh.edu.mx

## **Agradecimientos**

Durante el desarrollo de estos estudios, se contó con una beca de manutención otorgada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) con el número de CVU 1309883. Agradezco por el apoyo económico otorgado para realizar mis estudios de maestría durante el periodo de septiembre de 2023 a agosto de 2025.

Durante el periodo de octubre de 2024 a marzo de 2025 se realizó una estancia nacional de investigación en el área de patología del Hospital del Niño DIF, Pachuca Hidalgo, a cargo del Biólogo Álvaro Rubén Hernández Cruz y del Médico Patólogo Rubén Darío Pérez Velásquez a quienes les agradezco su apoyo en la capacitación en el procesamiento y análisis de las muestras histológicas.

Durante el periodo de enero 2024 a junio 2025 trabajé en el Bioterio del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Agradezco al personal del Bioterio, Biólogo René Hernández López y la Lic. Belem Romero Cruz por el apoyo en el mantenimiento de los animales de experimentación. El análisis de muestras se realizó en el laboratorio de Toxicología adscrito al Área Académica de Medicina.

Con profunda estima y reconocimiento expreso mi agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Manuel Sánchez Gutiérrez, por su apoyo, su dedicación, sus consejos, su conocimiento, sus recursos y sobre todo su tiempo, gracias a ello he podido lograr esta meta tan anhelada.

A la Maestra Julieta Izquierdo Vega le agradezco por su tiempo, consejos y conocimiento, su dedicación y guía fueron pilares para la realización de este proyecto.

A la Dra. Jeannett Alejandra Izquierdo Vega por su incondicional apoyo y conocimiento en el manejo de muestras, así como la redacción de esta tesis, su guía y su paciencia han sido fundamentales en esta etapa.

### **Agradecimientos personales**

Quiero agradecer a mis padres María Elena Juárez Haro y Mauricio Mendoza González por haberme brindado su apoyo, así como su amor y comprensión durante esta etapa, por acompañarme en el proceso, no soltarme y verme culminar esta meta tan deseada, sin ustedes no lo habría podido lograr.

A mi hermana Paola Mendoza Juárez por siempre estar a mi lado, compartir su apoyo y tiempo conmigo, así como nunca permitir que me rindiera, has sido un pilar fundamental.

A mi pareja Erik Ramírez Moctezuma por brindarme sus palabras de aliento, apoyo incondicional, por acompañarme en esta etapa y, sobre todo, por siempre creer en mi fortaleza.

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	i
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	vi
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	vii
<b>ABREVIATURAS</b>	viii
<b>RESUMEN</b>	ix
<b>ABSTRACT</b>	x
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II ANTECEDENTES</b>	3
2.1 Generalidades	3
2.1.1 Salud periodontal	
2.1.2 Componentes del periodonto	
2.1.2.1 Encía	
2.1.2.2 Encía marginal	
2.1.2.3 Encía insertada	
2.1.2.4 Encía interdental	
2.1.2.5 Ligamento periodontal	
2.1.2.6 Cemento	
2.1.2.7 Hueso alveolar	
2.1.3 Biotipos gingivales	

2.1.4	Proceso salud enfermedad	
2.1.5	Periodontitis	
2.1.6	Epidemiología	
2.1.7	Clasificación de la enfermedad periodontal	
2.1.8	Diagnóstico	
2.1.9	Estadios	
2.1.10	Grados	
2.1.11	Instrumental para diagnóstico	
2.1.12	Tratamiento periodontal	
2.1.13	Etiología	
2.1.14	Microbioma	
2.1.15	Rol del sistema inmune en la periodontitis	
2.1.16	Rol del proceso inflamatorio en la periodontitis	
2.1.17	Daño oxidativo en la periodontitis	
2.1.18	Icarina (ICA)	
2.1.18.1	Origen	
2.1.18.2	Usos de la ICA en la medicina tradicional	
2.1.18.3	Composición	
2.1.19	Propiedades antiinflamatorias de ICA en diversos tejidos	
2.1.20	Propiedades antioxidantes de la ICA	
2.2	Antecedentes directos del problema	32
2.2.1	Efecto de la ICA sobre la inflamación del periodonto	
2.3	Planteamiento del problema	33

<b>III</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	35
<b>IV</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	36
<b>V</b>	<b>OBJETIVOS</b>	36
	5.1 Objetivo General	36
	5.2 Objetivos Específicos	36
<b>VI</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	37
	6.1 Contexto de la investigación	37
	Tipo y diseño de estudio	
	6.2 Selección de la población, criterios de inclusión y exclusión	37
	6.3 Tamaño de muestra y muestreo	38
	6.4 Diagrama de diseño experimental	
	6.5 Definición de variables	41
	6.6 Inducción de la periodontitis en el modelo experimental	42
	6.6.1 Procedimiento	
	6.7 Tratamiento de la periodontitis en modelo experimental	42
	6.7.1 Preparación de la ICA	
	6.7.2 Procedimiento de aplicación de tratamientos	
	6.7.3 Sacrificio de animales	
	6.7.4 Medición de la cresta alveolar	
	6.8 Histología en mandíbulas	43
	6.9 Evaluación de daño oxidativo en el periodonto	44
	6.9.1 Cuantificación de malondialdehído en tejido periodontal	

6.9.2	Cuantificación de carbonilos en tejido periodontal	
6.10	Análisis estadístico	46
<b>VII</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>47</b>
7.1	Efecto de la periodontitis inducida en el modelo experimental	47
7.1.1	Peso corporal	
7.1.2	Medición de cresta alveolar	
7.2	Efectos clínicos de la ICA en la periodontitis inducida	48
7.3	Efecto de la ICA sobre el daño oxidativo periodontal inducido	52
7.3.1	Efecto de la ICA sobre la cuantificación de malondialdehído en la periodontitis experimental inducida	
7.3.2	Efecto de la ICA sobre la cuantificación de carbonilos en la periodontitis experimental inducida	
7.4	Histología periodontal	57
7.4.1	Análisis histológico del efecto de la ICA sobre el tejido periodontal experimental	
7.4.2	Análisis inflamatorio-histológico de la ICA sobre el tejido periodontal	
<b>VIII</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>62</b>
8.1	Efecto de la periodontitis inducida en ratas Wistar	62
8.2	Efecto antiinflamatorio de la ICA en un modelo de ratas Wistar	63
8.3	Efecto antioxidante de la ICA en un modelo de ratas Wistar	65

<b>IX</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	69
<b>X</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	69
<b>XI</b>	<b>REFERENCIAS</b>	70
<b>XII</b>	<b>ANEXOS</b>	81
	12.1 Formatos, cuestionarios, encuestas, etc	

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes del periodonto	4
Figura 2. Estructuras que conforman al periodonto	7
Figura 3. Respuesta inmune periodontal	25
Figura 4. Estructura química de la ICA	27
Figura 5. Diagrama del diseño experimental	40
Figura 6. Tendencia de crecimiento promedio de los animales de cada grupo experimental	47
Figura 7. Comparación entre grupos experimentales previo al inicio del tratamiento	49
Figura 8. Comparación entre grupos experimentales a dos semanas del inicio del tratamiento	50
Figura 9. Medición con sonda UNC de la pérdida del nivel de la cresta alveolar	51
Figura 10. Cuantificación de malondialdehído (MDA) en tejido gingival	53
Figura 11. Cuantificación de carbonilos en tejido gingival.	55
Figura 12. Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) de las muestras de los diferentes grupos experimentales	58
Figura 13. Cortes histológicos de muestras de los diferentes grupos experimentales	60

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de estadios de la enfermedad periodontal. Severidad, complejidad, distribución y extensión	14
Tabla 2. Clasificación por grados de la enfermedad periodontal. Criterios primarios y modificadores de grado	16
Tabla 3. Definición de variables	41
Tabla 4. Prueba de ANOVA de un factor para la medición del nivel de la cresta alveolar en mm	52
Tabla 5. Prueba Post-Hoc de Tukey para la medición del nivel de la cresta alveolar	52
Tabla 6. Prueba de ANOVA de una vía para la medición de MDA (mM/mg tejido) en los grupos experimentales	54
Tabla 7. Prueba Post Hoc de Tukey para la medición de MDA (mM/mg tejido)	54
Tabla 8. Prueba de ANOVA de una vía para la cuantificación de carbonilos (nmol/mg proteína) en los grupos experimentales	56
Tabla 9. Prueba Post Hoc de Tukey para la cuantificación de carbonilos (nmol/mg proteína)	56
Tabla 10. Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	61
Tabla 11. Comparaciones por parejas de tratamientos	61

## **ABREVIATURAS**

CHX: Clorhexidina

CN: Control negativo

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2

EOx: Estrés oxidativo

EROs: Especies reactivas de oxígeno

ICA: Icarina

MDA: Malondialdehído

PERIO: Periodontitis

UNC: Universidad Carolina del Norte

## RESUMEN

La periodontitis es un problema de salud pública importante a nivel mundial que conlleva la pérdida de piezas dentales, así como una discapacidad masticatoria que se caracteriza por una inflamación crónica y una disbiosis microbiana que destruye los tejidos de soporte del diente. El uso de clorhexidina (CHX) como tratamiento adyuvante presenta diversos efectos adversos en el paciente y sobre el periodonto. Actualmente, se han propuesto diversas alternativas de origen natural con el propósito de encontrar beneficios en el tratamiento complementario de la periodontitis. La Icarina (ICA) es un compuesto derivado de la familia de plantas Berberidaceae del género *Epimedium* que posee actividades antiinflamatorias, anticancerígenas y antioxidantes. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antiinflamatorio de la ICA en la periodontitis inducida en un modelo de ratas Wistar. Se dividieron los animales en 4 grupos experimentales (control, periodontitis, CHX e ICA). La inducción de periodontitis se realizó colocando una sutura de seda 3-0 USP en los incisivos inferiores. Luego de 7 días de inducción, los animales presentaron signos clínicos de inflamación como enrojecimiento y tumoración en el tejido periodontal, también se observó la presencia de una bolsa periodontal en el sitio de inducción. No se observaron diferencias en el peso de los animales de los diferentes grupos durante la fase experimental. Los tratamientos con ICA (2%) y CHX (0.2%) fueron administrados por vía tópica en las encías de los animales dos veces al día (8 am y 5 pm), durante 15 días. Posteriormente, los animales fueron sacrificados, se evaluó clínicamente y se evaluó el daño oxidativo en tejido gingival mediante la cuantificación de MDA y la carbonilación de proteínas. Adicionalmente, se realizó el análisis histológico de las encías en los animales de experimentación. Los resultados mostraron una disminución de la inflamación clínica presentada en el tejido periodontal en los grupos ICA y CHX respecto al grupo de periodontitis. Con respecto al daño oxidativo en el tejido, se observó un incremento significativo en la concentración de MDA en la encía de los animales con periodontitis vs el grupo control ( $p < 0.001$ ) y una disminución significativa en la concentración de MDA en el grupo de ICA vs el grupo periodontitis ( $p < 0.001$ ), y no hubo una diferencia significativa vs grupo control ( $p = 0.133$ ). La concentración de MDA no tuvo

diferencias significativas entre los grupos ICA vs CHX ( $p=0.989$ ). Asimismo, la concentración de carbonilos incrementó significativamente en el grupo con periodontitis vs el grupo control ( $p<0.001$ ), mientras que en los grupos de ICA y CHX disminuyeron significativamente vs el grupo de periodontitis ( $p<0.001$ ,  $p<0.001$  respectivamente). Finalmente, en el análisis histológico de tejido gingival se confirmó el evento inflamatorio observado clínicamente, evidenciando una reducción en la cantidad de linfocitos infiltrados observados por campo visual en el tejido de la encía de los grupos de ICA y de CHX vs el grupo de periodontitis ( $p<0.001$ ) sin observar diferencia significativa en la cantidad de linfocitos observados por campo visual en el grupo ICA vs grupo CHX ( $p=0.58$ ). Estos resultados en conjunto indican que la ICA tiene efectos antiinflamatorios y antioxidantes en la periodontitis inducida, siendo sus efectos comparables con la CHX.

## ABSTRACT

Periodontitis is a major global public health problem that leads to tooth loss and masticatory disability. It is characterized by chronic inflammation and microbial dysbiosis that destroys tooth-supporting tissues. The use of chlorhexidine (CHX) as an adjuvant treatment presents various adverse effects for patients and their periodontium. Currently, several natural alternatives have been proposed with the aim of finding benefits in the complementary treatment of periodontitis. Icariin (ICA) is a compound derived from the Berberidaceae plant family of the genus *Epimedium* that possesses anti-inflammatory, anticancer, and antioxidant activities. The aim of the present study was to evaluate the anti-inflammatory effect of ICA on periodontitis induced in a Wistar rat model. Animals were divided into 4 experimental groups (control, periodontitis, CHX, and ICA). Periodontitis induction was performed by placing a 3-0 USP silk suture in the lower incisors. After 7 days of induction, the animals showed clinical signs of inflammation such as redness and swelling in the periodontal tissue. A periodontal pocket was also observed at the induction site. No differences in animal weight were observed between the different groups during the experimental phase. ICA (2%) and CHX (0.2%) treatments were administered topically to the gums of the animals twice daily (at 8 AM and 5 PM) for 15 days. Subsequently, the animals were sacrificed and clinically evaluated by photographs, also, oxidative damage to the gingival tissue was assessed by MDA quantification and protein carbonylation. Additionally, histological analysis of the gums in the experimental animals was performed. The results showed a decrease in the clinical inflammation presented in the periodontal tissue. Regarding oxidative damage in the tissue, a significant increase in MDA concentration was observed in the gingiva of animals with periodontitis vs. the control group ( $p < 0.001$ ), and a significant decrease in MDA concentration was observed in the ICA group vs. the periodontitis group ( $p < 0.001$ ), there was no significant difference vs. the control group ( $p = 0.133$ ). MDA concentration had no significant differences between the ICA vs CHX groups ( $p = 0.989$ ). Likewise, the concentration of carbonyls increased significantly in the periodontitis group vs. the control group ( $p < 0.001$ ), while in the ICA and CHX groups the concentration of carbonyls decreased significantly vs. the periodontitis group ( $p$

<0.001,  $p < 0.001$ , respectively). Finally, histological analysis of gingival tissue confirmed the inflammatory event, showing a reduction in the number of infiltrated lymphocytes observed per visual field in the gingival tissue of the ICA and chlorhexidine groups vs. the periodontitis group ( $p < 0.001$ ), and no significant difference was observed in the number of lymphocytes observed per visual field in the ICA group vs. the CHX group ( $p = 0.58$ ). These results together indicate that ICA has anti-inflammatory and antioxidant effects in induced periodontitis, its effects being comparable to those of CHX.

## I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es una enfermedad inflamatoria que se caracteriza por la destrucción de los tejidos de soporte del diente, es una enfermedad crónica de carácter multifactorial y está asociada con una disbiosis de biofilm oral. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que esta enfermedad afecta al 19% de la población mundial adulta, por lo que se considera un problema de salud pública. (1) Su tratamiento suele estar acompañado de principios activos con actividad bactericida como la clorhexidina (CHX) que es el coadyuvante de primera elección, sin embargo, este presenta efectos secundarios en el paciente como la tinción dental, glosodimia, descamación de la mucosa oral, inflamación de la glándula parótida, pérdida de sabor, adormecimiento, xerostomía y parestesia oral. (2) Debido a esto, en este trabajo de tesis se propone una alternativa terapéutica que ofrezca un efecto antiinflamatorio, que sea de origen natural y que pudiera tener menores efectos secundarios en el paciente.

La Icarina (ICA) es un flavonoide que se ha utilizado de manera natural por miles de años en la medicina tradicional china y se han demostrado sus propiedades antiinflamatorias. (3) El objetivo del presente estudio fue comparar a la clorhexidina con la ICA en la periodontitis inducida en ratas Wistar macho para proponer un nuevo adyuvante.

Este documento se encuentra dividido en varias secciones, en la primera sección se describen las generalidades respecto a la enfermedad periodontal, su desarrollo, su clasificación, epidemiología, y tratamiento, continúa con la interacción de la actividad inmunológica y la respuesta inflamatoria del sistema inmune y respuesta inflamatoria en la periodontitis, posteriormente se describe a la ICA con los usos tradicionales y antecedentes.

En la siguiente sección se encuentran el planteamiento del problema, la justificación, hipótesis, y objetivos incluyendo al objetivo general. Posteriormente, se encuentran las metodologías utilizadas en el proyecto, donde se describen la inducción

periodontal en los animales de experimentación, los tratamientos realizados, así como las metodologías realizadas en el tejido periodontal en el laboratorio.

Finalmente, la sección de resultados que muestra el análisis estadístico realizado, las imágenes de histología del tejido periodontal teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) así como la discusión de los resultados y la conclusión del proyecto, los anexos y las referencias utilizadas.

## II. ANTECEDENTES

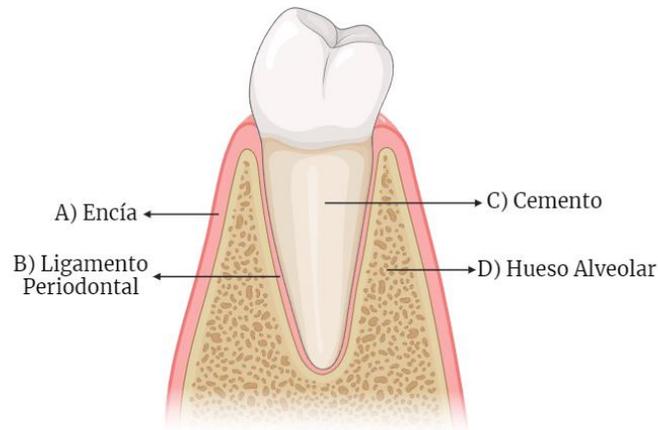
### 2.1 Generalidades

#### 2.1.1 Salud periodontal

La salud periodontal se puede definir como la ausencia de la inflamación clínicamente detectable asociada con gingivitis o periodontitis sin evidencia de cambios anatómicos en el periodonto. Lang y Bartold (2018) proponen 4 niveles de salud periodontal que incluyen a) salud periodontal prístina para pacientes con una ausencia total de inflamación en un periodonto con soporte normal sin presencia de pérdida de inserción, sin sangrado al sondeo, surco menor a 3 mm, sin enrojecimiento ni inflamación ni presencia de pus; b) salud periodontal clínica para pacientes con niveles mínimos de inflamación en un periodonto con soporte normal; c) estabilidad en enfermedad periodontal para pacientes con un periodonto reducido e inflamación mínima con una respuesta terapéutica óptima y control de factores de riesgo y d) enfermedad periodontal en remisión o control para pacientes con periodonto reducido que no se pueden modificar los factores de riesgo y respuesta al tratamiento terapéutico no favorable. (4)

#### 2.1.2 Componentes del periodonto

El periodonto es un conjunto de tejidos que rodean al diente en los huesos maxilares y tienen la función de resistir las fuerzas masticatorias protegiendo la mucosa masticatoria. El periodonto se compone de 4 estructuras: encía, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar, como se muestra en las figuras 1 y 2 (5,6)



**Figura 1.** Componentes del periodonto. Creado en Biorender.com. Fuente Propia.

### 2.1.2.1 Encía

La encía es una mucosa color rosado que se encuentra rodeando al diente y cubriendo al hueso alveolar. Se conforma por un tejido epitelial especializado que se encuentra formado por células epiteliales de unión y lo podemos encontrar en la parte inferior del surco gingival. La encía tiene como función ser una barrera protectora contra el trauma que se produce de forma fisiológica y de igual forma contra la agresión de microorganismos. El epitelio tiene la capacidad de respuesta inmune contra la inflamación. La encía es responsable de la sensación bucal y se encarga de la absorción de los micronutrientes. (5)

La encía se divide en forma anatómica en 3 partes: la encía marginal o libre, encía insertada y encía interdental.

### 2.1.2.2 Encía marginal o libre

Esta encía es de un color rosado coral y es de consistencia firme, se localiza tanto vestibular como palatina o lingualmente en los dientes y los rodea a nivel amelocementario en forma de collar, midiendo 1 mm aproximadamente. Su porción

más apical se le llama cénit gingival. Se extiende apicalmente desde el borde gingival hasta el surco gingival. Esta encía se une al diente por medio del epitelio de unión. (5–7) La encía marginal da forma a la pared blanda del surco gingival.

El surco gingival es una hendidura alrededor del diente, la superficie del diente y el epitelio que recubre el margen libre de la encía lo definen, tiene un espesor de 3 mm o menos. (5)

#### 2.1.2.3 Encía insertada

Se le conoce como encía adherida y es la encía que continúa a la encía marginal. Esta encía es firme, es resistente y se une al periostio alrededor del hueso alveolar. Tiene una consistencia de puntillero característica y tiene la forma festoneada del hueso subyacente. Su extensión va desde la unión mucogingival hasta la proyección de la superficie externa de la parte más profunda del surco gingival, midiendo alrededor de 4-6 mm en vestibular de incisivos y molares. En la zona lingual termina en la unión de la mucosa alveolar lingual y en la zona palatina se difumina con la mucosa que conforma el paladar. (5,6)

#### 2.1.2.4 Encía interdental

También se le conoce como papila interdental, esta se encuentra justo encima (en el maxilar), y justo por debajo (en la mandíbula) del punto de contacto entre los dientes. Su forma es piramidal y depende de la presencia o ausencia del punto de contacto dental, así como de las dimensiones de las superficies proximales, de la cresta ósea y de la distancia que exista entre los dientes. (5,6)

#### 2.1.2.5 Ligamento periodontal

Es un tejido conectivo especializado que cubre las raíces de los dientes, y los une con el hueso. Su localización es entre el hueso alveolar que cubre a las raíces y el cemento radicular y mide alrededor de 0.2 a 0.4 mm. Tiene varias funciones, como la protección contra lesiones causadas por las fuerzas masticatorias y mecánicas, absorbiendo y transmitiendo al hueso, mantiene los tejidos y une al diente con el hueso alveolar. Ayuda en la reparación, modelación y regeneración de los tejidos periodontales y determina la movilidad dentaria dentro del alveolo gracias a su espesor y altura y calidad. (5–7)

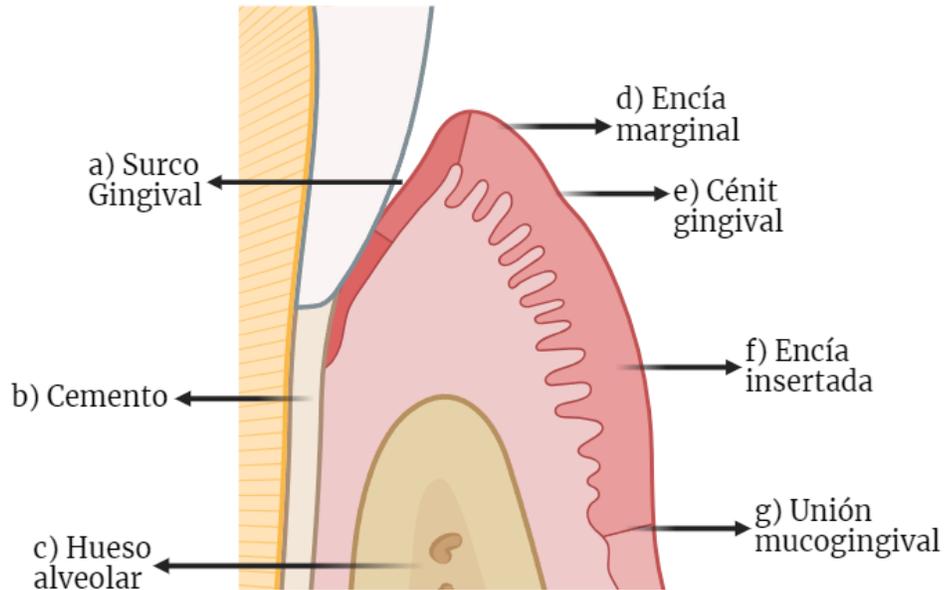
Las fibras que lo componen están conformadas por colágeno (en su mayoría tipo I y III). (5,6) Se disponen en 6 grupos: Transeptales, horizontales, fibras de la cresta alveolar, oblicuas, apicales e interradiculares formando una red de fibras. (6)

Las fibras de Sharpey son las porciones terminales de las fibras principales que se encuentran embebidas tanto en cemento como en hueso, en el cemento acelular se encuentran mineralizadas por completo y en el cemento celular y en el hueso se encuentran mineralizadas en la periferia. (6)

#### 2.1.2.6 Cemento

El cemento es la porción anatómica que cubre la raíz del diente. Es un tejido mineralizado especializado avascular calcificado y tiene una porción celular y una acelular, es de color amarillento, mide alrededor de 0.5 a 0.6 mm en la porción apical y es menor en la porción cervical. Tiene como característica que se sigue depositando durante toda la vida. Las fibras de Sharpey dan la principal fuente de colágeno al cemento a través de una vía extrínseca, la cual es producida por los fibroblastos. También recibe de una vía intrínseca el colágeno, esta vía está dada por la matriz del cemento producido por los cementoblastos. Sus funciones son fijar

las fibras del ligamento a la raíz, así como su participación en el proceso de reparación al sufrir un daño la superficie radicular y proteger a la dentina. (5,6)



**Figura 2.** Estructuras que conforman al periodonto. Creado en Biorender.com. Fuente propia

#### 2.1.2.7 Hueso alveolar

Es la parte del proceso alveolar en el maxilar y en la mandíbula que da lugar y forma a cavidades en las que se alojan los dientes, estos son los alveolos, que son estructuras dependientes del estado y presencia de los dientes, ya que estos definen su morfología. (5)

Consta de láminas corticales que son formadas por hueso compacto, esponjoso y alveolar. La mayor parte de las zonas vestibular y lingual de los alvéolos se conforma de hueso compuesto y las zonas que rodean la lámina dura en apical, apicolingual e interradicular se conforman por hueso esponjoso. (5,6)

El hueso se encuentra en constante remodelación por las demandas que ejercen las fuerzas de masticación y movilidad dentaria. (6)

### 2.1.3 Biotipos gingivales

Los biotipos gingivales (antes llamados fenotipos) son una categorización que toma en cuenta un conjunto de características de la encía a nivel bucolingual. Se define como el grosor de la encía y su extensión por la cara faciopalatal y faciolingual. Seibert y Lindhe (1989) lo categorizaron en dos: grueso-plano y delgado festoneado. (8)

En la última clasificación de enfermedades periodontales, Cortellini y Bissada (9) utilizaron la clasificación de Zweers et al. para definir a los biotipos gingivales: (10)

- Biotipo delgado festoneado donde las coronas suelen ser triangulares, convexidad cervical ligera, puntos de contacto incisales, poco tejido queratinizado, encía y hueso delgados.
- Biotipo grueso plano donde las coronas de los dientes son cuadradas, convexidad cervical notable, puntos de contacto amplios hacia apical, tejido queratinizado abundante, encía gruesa y fibrótica, hueso alveolar ancho.
- Biotipo grueso festoneado donde se observa una encía gruesa y fibrótica, dientes delgados, poco tejido queratinizado, encía festoneada.

### 2.1.4 Proceso salud enfermedad

La cavidad oral está compuesta por un microbioma que coexisten en armonía con el huésped, la interacción resulta de la maduración de la mucosa del huésped, así como del desarrollo del sistema inmune del huésped y sus hábitos. (11)

La saliva, por su parte, juega un papel importante en el equilibrio y simbiosis del microbioma oral. (12) La saliva participa en la generación de la película adquirida que cubre al diente y ayuda a la adhesión y colonización de los microorganismos, también es responsable de la autoclisis, que es el proceso por el cual la saliva limpia los detritos de alimento de la cavidad oral, además de proveer nutrientes a los

microorganismos a través de glicoproteínas, mineralización dental, actividad antimicrobiana, reparación de tejidos y digestión. (11,13)

La perturbación o alteración en el microbioma oral genera una disbiosis que puede ser provocada por una higiene oral deficiente, sistema inmune perturbado, una respuesta inflamatoria a un factor o una combinación de estas variables. Esta disbiosis se asocia, de igual forma, a la diversidad incrementada de microorganismos que se extienden y reproducen y dan lugar a microorganismos oportunistas. (11)

El inicio de la gingivitis inducida por biofilm empieza cuando la placa dental se acumula por un periodo de tiempo que conlleva días o semanas sin ser removida y ocurre la disbiosis. Sus características son signos y síntomas de inflamación en la encía marginal y no excede la unión mucogingival, y esta puede ser reversible al retirar el biofilm. Esta inflamación es un requisito para el desarrollo de la periodontitis y la progresión de pérdida de inserción y pérdida ósea, por lo que su manejo es de suma importancia en la prevención de periodontitis. (14,15)

#### 2.1.5 Periodontitis

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria que se caracteriza por la destrucción de los tejidos de soporte dental que conforman al periodonto. Es una enfermedad crónica multifactorial asociada con la disbiosis del biofilm y se caracteriza por distintos síntomas, los cuales incluyen la pérdida de inserción clínica, pérdida ósea, presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival. Esta enfermedad puede llevar a la pérdida de órganos dentales y afecta al paciente en la función masticatoria. (16)

### 2.1.6 Epidemiología

Según la OMS, se estima que la enfermedad periodontal afecta a aproximadamente el 19% de la población mundial adulta, es decir, más de mil millones de personas a nivel mundial, siendo la sexta enfermedad crónica más común en el mundo. (1) La prevalencia global aumenta conforme a la edad desde la adolescencia hasta la adultez y vejez, así como un estatus socioeconómico bajo, ya que hay escaso acceso al cuidado de la salud oral y su prevalencia es más alta en los países menos desarrollados. (17) Un meta análisis concluyó que entre 2011 a 2020 hubo una estimación del 62% de prevalencia de periodontitis en adultos dentados y 23% respecto a periodontitis severa. (18)

Los factores de riesgo que preceden a esta enfermedad incluyen el consumo de tabaco, el uso de vapeadores, consumo de alcohol, dieta poco saludable alta en carbohidratos, una higiene dental deficiente y enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). (1)

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, a través del SUIVE (Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica), en 2010 reportó que en el 2008 los estados más afectados en cuanto a gingivitis y enfermedad periodontal eran Zacatecas, Hidalgo y San Luis Potosí, con una incidencia de 1742.9, 1656.5 y 1154.3, respectivamente, por cada 100 mil habitantes. Por otro lado, los estados con menor incidencia fueron Quintana Roo, Nuevo León y el Distrito Federal, ahora Ciudad de México. (19)

Según el Índice Periodóntico Comunitario realizado por la SIVEPAB (Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales) en México en 2021 en una muestra de 52,938 pacientes entre 20 y 99 años, el 60% presentaron al menos un signo de enfermedad periodontal, 23.6% presentaron gingivitis, 3.8% bolsas periodontales superficiales y 1% bolsas periodontales profundas. Por otro lado, de 75,368 pacientes, 43.8% presentó un periodonto sano; a partir de los 50 años de edad, los pacientes estudiados que presentan periodontitis fueron 6 de cada 10. (20)

### 2.1.7 Clasificación de la enfermedad periodontal

En 1999, el taller encargado de reclasificar la enfermedad periodontal la categorizó en periodontitis crónica, agresiva (local o general), necrosante y como manifestación de enfermedad sistémica. Esta clasificación se utilizó por 19 años hasta que en el 2017 el World Workshop de la Federación Europea de Periodoncia y Asociación Americana de Periodoncia la volvieron a clasificar. Esto se debió a que desde 1999 se ha recopilado nueva información, tanto en estudios como en investigaciones científicas que han evaluado los factores sistémicos y ambientales de la enfermedad. (21) Este workshop acordó que la nueva clasificación de la enfermedad periodontal se conforma de esta manera:

1. Salud periodontal, gingivitis y condiciones gingivales
2. Periodontitis
3. Otras condiciones que afectan al periodonto
4. Enfermedades y condiciones peri-implante

La sección de salud periodontal, gingivitis y condiciones gingivales se categoriza a su vez en:

1. Salud periodontal y salud gingival
2. Gingivitis inducida por biofilm
3. Enfermedades gingivales no inducidas por biofilm

Se acordó que se identifican 3 tipos de periodontitis:

1. Periodontitis necrotizante
2. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas
3. Periodontitis

### 2.1.8 Diagnóstico

Se generó una serie de criterios que están destinados a clasificar al paciente con enfermedad periodontal dentro de estadios y grados de severidad, los cuales nos darán el diagnóstico periodontal. El estadio dependerá de la gravedad del caso, ya sea por el manejo o por su condición clínica, y evalúa la severidad del caso. La graduación evalúa el riesgo de progresión y el riesgo de cuánto, tanto la enfermedad como el tratamiento, puedan llegar a afectar la salud general del paciente. El estadio consta de 4 categorías que van del 1 al 4 y considera la pérdida de inserción clínica, pérdida ósea, profundidad al sondeo, defectos óseos, compromiso de la furca, movilidad, pérdida de órganos dentales. Asimismo, el grado consta de tres niveles: A, B y C, donde A es riesgo bajo, B es riesgo moderado y C es riesgo alto de progresión, y considera la salud general del paciente y factores ambientales. (22)

### 2.1.9 Estadios

Como se mencionó anteriormente, los estadios van del 1 al 4 y se consideran 3 factores: la severidad, la complejidad y la extensión y distribución.

Con respecto a la severidad, se consideran 3 variantes: la pérdida de inserción clínica, la pérdida ósea a nivel radiográfico y la pérdida de dientes. En la pérdida de inserción clínica, podemos concluir un estadio 1 cuando hay de 1 a 2 mm de pérdida, estadio 2 cuando hay de 3 a 4 mm, estadio 3 o 4 cuando hay  $\geq 5$  mm. En la variante de pérdida ósea, a nivel radiográfico, el estadio 1 es cuando abarca el tercio coronal ( $<15\%$ ), el estadio 2, el tercio coronal del 15% al 30%, y el estadio 3 o 4, cuando se extiende a la mitad o al tercio apical de la raíz. Y finalmente, en la variante de pérdida dental, en los primeros dos estadios no se observa pérdida de piezas dentarias causada por periodontitis; en el estadio 3 hay  $\leq 4$  dientes perdidos debido a la periodontitis y estadio 4  $\geq 5$  dientes perdidos debido a la periodontitis. (16,22)

Es importante mencionar que el estadio 1 se determina a partir de la pérdida de inserción clínica, si ésta no se puede determinar, se utiliza la pérdida ósea radiográficamente.

La complejidad se categoriza de manera local en el estadio 1 cuando hay un máximo a la hora del sondeo de  $\leq 4$  mm con pérdida de hueso mayormente horizontal. El estadio 2 es cuando el sondeo máximo es de  $\leq 5$  mm y la pérdida ósea es en su mayoría horizontal. El estadio 3 se agrega la complejidad del estadio 2, sumando una profundidad de sondeo de  $\geq 6$  mm, pérdida ósea vertical  $\geq 3$  mm, involucramiento de la furca clase II o III, defecto de la cresta moderado. El estadio 4 agrega la complejidad del estadio 3, sumando la necesidad de una rehabilitación compleja debido a una disfunción masticatoria secundaria a trauma oclusal con una movilidad dental  $\geq 2$ , defecto de la cresta severo, colapso de mordida, con menos de 20 dientes remanentes (10 pares opuestos). (22)

Se debe considerar que un involucramiento de la furca de clase II o III afecta la severidad sin importar el nivel de inserción clínica. La distinción entre los estadios 3 y 4 se basa en el número de dientes perdidos y disfunciones masticatorias. Si el paciente tiene una pérdida de  $\geq 5$  dientes debido a la periodontitis y/o  $< 20$  dientes remanentes y/o necesita tratamiento para rehabilitar alguna disfunción masticatoria, se le asignará estadio 4. Si hay menos de 4 dientes perdidos debido a la periodontitis y no necesita rehabilitación por disfunción masticatoria, entonces se le asigna el estadio 3. La extensión y distribución se describe: es localizada cuando son  $< 30\%$  de los dientes involucrados o generalizada cuando son más del 30% y si se encuentra un patrón en incisivos o molar. (16)

**Tabla 1. Clasificación de estadios de la enfermedad periodontal. Severidad, complejidad, distribución y extensión. (22)**

	<b>Periodontitis</b>	<b>Estadio I</b>	<b>Estadio II</b>	<b>Estadio III</b>	<b>Estadio IV</b>
<b>Severidad</b>	Pérdida de inserción clínica	1-2 mm	3-4 mm	≥5 mm	≥5 mm
	Pérdida ósea	Tercio coronal (<15%)	Tercio coronal (15-30%)	Se extiende igual o más del tercio medio radicular	
	Pérdida de dientes por periodontitis	Sin pérdida dental		≤ 4 dientes	≥5 dientes
<b>Complejidad</b>	Local	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Profundidad de sondeo máximo ≤ 4</li> <li>• Mayoría de pérdida ósea horizontal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Profundidad de sondeo máximo ≤ 5</li> <li>• Mayoría de pérdida ósea horizontal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Profundidad de sondeo máximo ≥ 6 mm</li> <li>• Pérdida ósea vertical ≥3 mm</li> <li>• Lesión en furca clase II o III</li> <li>• Defectos de cresta moderados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Además de la complejidad del estadio II,</li> <li>• Necesidad de rehabilitación compleja por: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Disfunción masticatoria</li> <li>• Trauma oclusal secundario con movilidad dental grado 2 o más</li> <li>• Defectos de cresta severos</li> <li>• &lt;20 dientes remanentes</li> </ul> </li> </ul>
		Además de la complejidad del estadio III,			
<b>Distribución y Extensión</b>	Para cada estadio: Localizado (<30% de dientes involucrados) Generalizada; o Patrón incisivo/molar				

### 2.1.10 Grados

Con respecto a la graduación, se divide en 3 niveles: el grado A, que es de progresión lenta; el grado B, de progresión moderada; y el grado C, de progresión rápida. Usualmente, a todos los pacientes de entrada se les asigna el grado B y posteriormente se ajusta el diagnóstico al considerar los factores de riesgo o modificadores de grado, como el fumar y la DMT2. Se consideran dos variantes para la determinación del grado, que son los criterios primarios y los modificadores de grado. (16,22)

En los criterios primarios se consideran 2 variantes que son la evidencia directa de progresión y la evidencia indirecta. La evidencia directa siempre es la primera opción para determinar el grado y si no se encuentra disponible entonces se usa la indirecta. (22)

La evidencia directa son los datos longitudinales como la pérdida de inserción clínica y pérdida ósea radiográfica, el grado A se determina cuando no hay evidencia de pérdida en 5 años; el grado B se determina cuando hay pérdida de  $<2$  mm en 5 años; el grado C se determina cuando hay  $\geq 2$  mm en 5 años. (22)

La evidencia indirecta, en cambio, considera el porcentaje de pérdida ósea sobre la edad y también considera el fenotipo. El porcentaje de pérdida ósea sobre la edad se determina en el grado A cuando existe  $<0.25\%$ , grado B 0.25 a 1% y grado C  $>1\%$ . En cuanto al fenotipo el grado A es cuando hay grandes cantidades de depósito de biofilm con poca destrucción, grado B destrucción y niveles de depósitos de biofilm proporcionados, grado C cuando la destrucción excede a los depósitos de biofilm con progresiones rápidas. En este punto se establece el grado, pero se puede modificar basándonos en los factores de riesgo. (16,22)

Los modificadores del grado son los factores de riesgo y se consideran el fumar y la DMT2. En cuanto a fumar se determina el grado A los no fumadores, el grado B a fumar  $<10$  cigarros al día, y el grado C a fumar  $\geq 10$  cigarros al día. En la DMT2 el grado A son pacientes con niveles de glucosa normal o no diabéticos, el grado B hemoglobina glicosilada (HbA1c)  $<7\%$  en pacientes con DMT2 Y el grado C HbA1c  $\geq 7\%$  en pacientes con DMT2. (16,22)

**Tabla 2. Clasificación por grados de la enfermedad periodontal. Criterios primarios y modificadores de grado. (22)**

		<b>Progresión</b>	<b>Grado A Lento</b>	<b>Grado B Moderado</b>	<b>Grado C Rápido</b>
	Evidencia directa	Pérdida ósea radiográfica o pérdida de inserción clínica	Sin pérdida en 5 años	<2 mm en 5 años	≥2 mm en 5 años
		% de pérdida ósea/edad	<0.25%	0.25 a 1 %	>1%
<b>Criterios Primarios</b>	Evidencia indirecta	Fenotipo	Depósitos de biofilm altos con nivel de destrucción bajo	Destrucción conmensurada con depósitos de biofilm	La destrucción excede las expectativas a comparación de los depósitos de biofilm, patrones de destrucción rápida o temprana
<b>Modificadores de grado</b>	Factores de riesgo	Fumar	No fumador	<10 cigarros al día	≥10 cigarros al día
		Diabetes	Normo glicémico/sin diabetes	HbA1c <7% en pacientes con diabetes	HbA1c ≥7% en pacientes con diabetes

### 2.1.11 Instrumental para diagnóstico

Las sondas periodontales son el instrumento más usado para la evaluación del periodonto. Se clasifican en sondas manuales, sondas de fuerza constante controlada, sondas de fuerza constante automatizadas, y sondas multidimensionales. Las características morfológicas de las sondas pueden limitar las mediciones dependiendo de sus angulaciones, forma, anchura, fuerza, especificidad de su punto de referencia. Las sondas periodontales más usadas son la sonda OMS (Organización Mundial de la Salud), la sonda UNC (Universidad Carolina del Norte) y la sonda Colorvue. La sonda OMS mide 11.5 mm y marca en 3.5, 5.5, 8.5 y 11.5 mm, tiene un diámetro de 0.25 mm desde la unión de la esfera con la punta activa y la esfera en el final de la punta activa mide 0.5 mm de diámetro.

La sonda Carolina del Norte es un instrumento avalado por la Federación Europea de Periodoncia y la Asociación Americana de Periodoncia para el diagnóstico periodontal, (22) tiene un diámetro en la punta de 0.5 mm y mide 15 mm de largo, marca cada milímetro. La sonda Colorvue es plástica y tiene una punta redondeada que mide 0.5 mm de diámetro y mide 12 mm de largo, marca cada milímetro. (23)

El uso de radiografías periapicales y aleta de mordida es indispensable para el diagnóstico, pues a través de estas se observa la pérdida ósea, pues son un método de diagnóstico rápido, fácil y accesible, además de una exposición a la radiación mínima, pero tiene sus desventajas, pues al ser imágenes en 2D, la interpretación puede estar limitada. Por otro lado, la tomografía computarizada Cone-Beam es una herramienta que permite que el diagnóstico sea 3D, teniendo más precisión para la localización de las estructuras anatómicas, así como su evaluación, aunque de igual forma tiene sus limitaciones, como mayor exposición a la radiación, es una técnica más invasiva, más costosa e incómoda. Dependerá el caso de cada paciente para elegir la herramienta de diagnóstico de imagen. (16,24)

#### 2.1.12 Tratamiento periodontal

El tratamiento debe realizarse de manera incremental, es decir, completar cada paso de manera exitosa, el paciente debe estar informado de cada paso a realizar y el plan de tratamiento puede cambiar dependiendo del desarrollo de la enfermedad, los factores de riesgo y el éxito de cada paso. (25)

### 2.1.12.1 Primer paso

El primer paso del tratamiento periodontal está dirigido a la motivación del paciente para modificar sus hábitos de higiene dental. El control de los factores de riesgo, ya sean locales o sistémicos como la DMT2 o el tabaquismo, es parte fundamental de esta etapa. El objetivo de esta etapa es la educación al paciente para generar hábitos preventivos que ayudarán a controlar la inflamación gingival y la cantidad de biofilm supragingival a través del retiro mecánico del mismo. (25,26)

El control del biofilm supragingival realizado por el paciente se logra a partir del uso de auxiliares de la higiene bucal, estos auxiliares involucran el cepillado dental con un cepillo dental adecuado, ya sea manual o mecánico, cepillos interdetales para una salud gingival interproximal, pasta dental con flúor, uso de hilo dental con una técnica adecuada y vigilada, irrigadores orales y enjuagues bucales. Una técnica de cepillado adecuada debe ser enseñada por el odontólogo y debe ser seleccionada de acuerdo a las necesidades del paciente, ya que el cepillado manual es la técnica a través de la cual se logrará la remoción del biofilm y, por lo tanto, la disminución de la gingivitis. (27)

La remoción de cálculo supragingival la debe realizar el clínico con el instrumental adecuado, como curetas o ultrasonido, y se debe considerar la presencia de factores retentivos como restauraciones mal ajustadas o prótesis y tratar estas afecciones, así como mantener su limpieza. (25) La remoción de cálculo puede ser realizada de manera manual, con ultrasonido o una combinación de ambas, la ventaja que ofrece el uso de ultrasonido es la disminución del tiempo empleado en la remoción en comparación con el uso de instrumentos manuales, pues el uso de ultrasonido agiliza la remoción de cálculo. En una revisión sistemática se concluyó que no existía diferencia en cuanto a resultados entre el uso de instrumentos manuales o el uso de ultrasonido. (28) Tampoco existe diferencia entre ambos respecto al grado de inflamación post instrumentación. (29)

Los factores de riesgo más predominantes son el tabaquismo y la DMT2, aunque existen diversos factores más, como son el estrés, alimentación excesiva en carbohidratos, sobrepeso e incluso sedentarismo, por lo que se recomienda la realización de actividad física y un cambio dietario reduciendo la cantidad de alimentos con alto contenido de carbohidratos, consultando un nutriólogo, así como el cese del tabaquismo. El objetivo es motivar al paciente a que cambie o reduzca estos hábitos y en caso de la DMT2, referir con un especialista para su control glicémico. (26,30)

#### 2.1.12.2 Segundo paso

Este segundo paso se dirige hacia la remoción subgingival del biofilm y cálculo, lo que incluye el raspado, desbridamiento subgingival y alisado radicular. Estos procedimientos son llamados instrumentación subgingival y no son quirúrgicos. Este paso requiere que el primero sea logrado de manera exitosa, pues se necesita un ambiente limpio. Al realizar estos procedimientos, si no se tiene un hábito de limpieza estable y adecuado o sin el control de factores de riesgo, el tratamiento va a fallar, pues habrá recidivas. Al finalizar este paso, debe pasar un tiempo de recuperación de 4 a 6 semanas, posteriormente, se reevalúa al paciente. (25,31)

Si después del segundo paso no se logra que las bolsas periodontales sean menores o iguales a 4 mm o persiste el sangrado en bolsas de 6 mm, entonces se implementa el tercer paso. Si se logra, entonces el paciente se remite a tratamiento de control y soporte de la enfermedad periodontal. (25)

La instrumentación subgingival se usa para lograr la reducción de bolsas periodontales mayores a 5 mm, reducción de inflamación gingival y reducción de zonas afectadas. Esto se logra removiendo los depósitos duros, como cálculo, y suaves, como biofilm, de la superficie del diente y debajo de la encía marginal. Se considera exitoso cuando se reducen las bolsas periodontales, midiéndose a través del uso de una sonda UNC menor o igual a 4 mm. La instrumentación se realiza bajo anestesia local y se pueden utilizar instrumentos como curetas, raspadores y

ultrasonidos, ya sea individualmente o en conjunto, por cuadrante o por arcada. Dependiendo del estadio, severidad y grado en el que se encuentre la enfermedad, la instrumentación gingival puede reducir la necesidad de un tratamiento, ya sea quirúrgico o más extenso. (25,28)

El uso de antisépticos se puede considerar como ayudante a la instrumentación subgingival, un ejemplo es la CHX en colutorio al 0.2% después de la instrumentación, ya que presenta propiedades antimicrobianas y anti biofilm. (32) Este agente se utiliza como profiláctico, adyuvante y postratamiento; sin embargo, se deben considerar los efectos adversos que puedan producir en el paciente, como la tinción dental, glosodimia, descamación de la mucosa oral, inflamación de la glándula parótida, pérdida de sabor, adormecimiento, xerostomía y parestesia oral, por lo que se usan por un periodo de tiempo limitado en casos específicos y solo bajo supervisión del odontólogo. (2)

Otro agente utilizado como adyuvante es el hipoclorito de sodio (NaClO), por sus actividades antimicrobianas, pues inhibe las enzimas bacterianas. Un metaanálisis reveló una disminución estadística en la reducción de la profundidad de bolsa periodontal usando hipoclorito de sodio, así como una reducción en el nivel de inserción clínica comparándolo con solo el tratamiento no quirúrgico, así como una reducción de la recesión gingival. (33)

Por otro lado, tenemos a la yodopovidona como agente adyuvante, pues presenta propiedades bactericidas. En el meta análisis previamente mencionado se observó que no había una diferencia respecto a la profundidad de bolsa al usar yodopovidona comparándolo con el solo tratamiento no quirúrgico de forma inmediata, sin embargo, se observó una mejoría a los 6 meses del tratamiento respecto al nivel de inserción clínico, aunque no se reporta alguna mejoría respecto a la inflamación o control de placa. (33)

El uso de antimicrobianos puede ser sistémico o local. De manera sistémica, existe una ventaja al poder tener alcance de superficies orales, tanto a los fluidos, como a los patógenos. (25)

El uso de metronidazol en conjunto con amoxicilina provee mayor efectividad en comparación con otros antibióticos a la hora de curetaje y alisado radicular, ya que reduce las bolsas periodontales y zonas de sangrado al sondeo, lo que sugiere un impacto en la estabilidad clínica de los pacientes con periodontitis y una reducción de la necesidad de un tratamiento quirúrgico en el futuro. Sin embargo, siempre se deben considerar los efectos adversos del uso de antibióticos, así como el estado de salud general del paciente para su uso. (34)

#### 2.1.12.3 Tercer paso

Como se mencionó anteriormente, el tratamiento debe ser de manera incremental, lo que significa que debemos lograr los primeros dos pasos para que este tercero pueda tener éxito. Es de suma importancia enfatizar que se necesita tener un control de la higiene bucal para poder realizar tratamientos periodontales quirúrgicos. En pacientes en estadio III, la profundidad de sondeo suele ser mayor a 6 mm, además, pueden presentar cavidades en la raíz, furcaciones o bolsas intraóseas. El objetivo de este paso es poder tener acceso a las zonas donde no hubo respuesta con el segundo paso, repitiendo el tratamiento de raspado y curetaje subgingival en bolsas de 4 a 5 mm. Además, se puede realizar la regeneración de lesiones a través de cirugías resectivas, regenerativas en lesiones de furca y mucogingivales, así como cirugías de colgajo en bolsas periodontales mayores a 6 mm. (25)

#### 2.1.12.4 Tratamiento de soporte o mantenimiento

Después del tratamiento periodontal activo exitoso, el paciente puede ser diagnosticado como paciente con periodontitis con periodonto reducido sano o paciente con periodontitis con inflamación gingival. Estos pacientes pueden tener recidivas, por lo que es importante que continúen con un tratamiento de soporte y mantenimiento. (25)

Esta etapa del tratamiento tiene como objetivo la monitorización y evaluación del periodonto y se suele realizar en intervalos de 2 a 6 meses, dependiendo del paciente y su estado periodontal, así como su riesgo de recidiva. De igual forma, se busca el reforzamiento de la higiene oral y el cuidado y monitoreo de hábitos. (31)

#### 2.1.13 Etiología

La periodontitis, como ya se mencionó anteriormente, resulta de una disbiosis oral provocada por la poca higiene oral que se forma con la presencia de cepas con un alto patrón de virulencia como son el complejo naranja y rojo, (35) algún estímulo físico o químico o una combinación de estos. La enfermedad periodontal asociada a biofilm inicia con una inflamación aguda, la gingivitis, que es reversible al retirar el estímulo. Si esta no se resuelve, la enfermedad evoluciona a un estado de inflamación crónica que resulta en la periodontitis y se caracteriza por la presencia de un microbioma oral alterado o biofilm disbiótico. (16,36)

#### 2.1.14 Microbiota

La microbiota sana incluye miembros de los filos *Firmicutes* (*Streptococcus* spp., *Veillonella* spp., y *Granulicatella* spp.), *Proteobacterias* (*Neisseria* spp., *Campylobacter* spp., y *Haemophilus* spp.), *Actynobacteria* (*Corynebacterium* spp.,

*Rothia* spp., y *Actinomyces* spp.), *Bacteroidetes* (*Prevotella* spp., *Capnocytophaga* spp., y *Porphyromonas* spp.), y *Fusobacteria* (*Fusobacterium* spp.) *Espiroquetas*, *Candida* y *Criptococos*. (11)

Socransky (1998), propuso la categorización de bacterias periodontales de acuerdo a su patogenicidad en complejos con códigos de colores, dando como resultado un complejo rojo característico de la periodontitis que es identificado por las bacterias *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*. (35) Este complejo se relaciona con una profundidad de bolsa mayor y con el sangrado al sondeo, y estas bacterias requieren de nutrientes para su crecimiento y replicación. (37) El complejo naranja también está asociado al desarrollo de la periodontitis, este incluye a patógenos de especies *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Campylobacter*. (36)

Un cambio en la microbiota hacia una disbiosis es el resultado de un conjunto de estímulos que incluyen una respuesta inmune inflamatoria, hábitos de higiene oral deficiente y hábitos nocivos que contribuyan a la inflamación de tejidos orales, como el fumar y una dieta alta en carbohidratos, así como la presencia de enfermedades de riesgo asociadas al desarrollo de la enfermedad periodontal, como la DM2 o la artritis reumatoide. (1,36,38)

#### 2.1.15 Rol del sistema inmune en la periodontitis

Para lograr una homeostasis se requiere de un estado controlado del sistema inmune, lo cual no sucede en la periodontitis debido a la cantidad de patógenos presentes que estimulan la secreción de citocinas proinflamatorias y que disrumpen la regulación del sistema inmune, siendo la respuesta innata la primera en combatir a estos patógenos. La periodontitis es el resultado del desequilibrio entre la osteogénesis y las funciones osteoclásticas que provocan destrucción del hueso alveolar. (39)

A grandes rasgos, la primera línea de defensa son los neutrófilos en el surco gingival, ya que mantienen y regulan los tejidos periodontales fagocitando bacterias y al mismo tiempo, secretan citocinas como IL-1 (interleucina-1), TNF- $\alpha$  (factor de

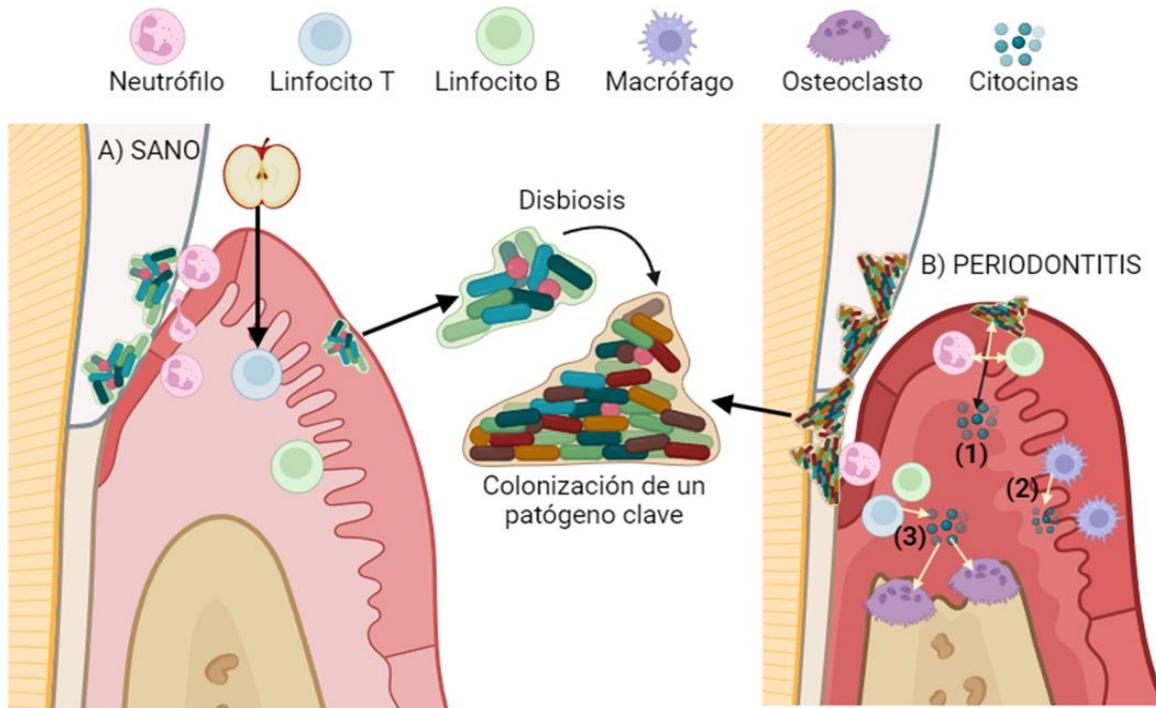
necrosis tumoral alfa), IL-6 e IL-8, secretan enzimas destructoras de tejido y especies reactivas de oxígeno, colagenasas y elastasas. (39–41) Después, los macrófagos se dedican al reconocimiento, la fagocitosis, presentación y eliminación de antígenos, así como la curación de tejidos, y ayudan a restablecer la homeostasis; en presencia de lipopolisacáridos (LPS) las células M1 se activan y producen IL-1, TNF, IL-6 e incrementan la respuesta inflamatoria, y en presencia de LPS, TNF- $\alpha$  o IFN- $\gamma$  (interferón gamma), los macrófagos M2 secretan IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y MMP-9 (metaloproteinasa 9). Sin embargo, las M2 posteriormente producen citocinas antiinflamatorias y promueven la reparación tisular. (39)

Por otro lado, las células dendríticas estimulan la activación de células T y B, también promueven la unión de la inmunidad innata y adaptativa secretando citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, IL-12 e IFN- $\gamma$ . (41) El epitelio gingival actúa como una barrera y además produce sustancias antibacterianas y reconoce patrones moleculares asociados al microbioma, a patógenos y a daños (MAMPs, PAMPs y DAMPs por sus siglas en inglés) a través de receptores reconocedores de patrones (PRRs por sus siglas en inglés) que reconocen los LPS, estimulando citocinas como IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ . (39,41)

La respuesta inmune adaptativa actúa como protectora de los tejidos periodontales. Libera células presentadoras de antígeno a las células B y T. Si esta respuesta se ve agravada, entonces los síntomas y daño en el periodonto también se ven agravados. Los linfocitos B se encargan de diferenciarse en células plasmáticas para producir anticuerpos, ayudan a la fagocitación y participan en la inmunorregulación y la respuesta inflamatoria al producir citocinas. Los linfocitos T maduros se dividen en CD4+ y CD8+ y también se clasifican en células T ayudantes y T reguladoras derivadas de CD4+ y en linfocitos T citotóxicos derivados de CD8+. (41)

Las células T ayudantes (Th por sus siglas en inglés) Th1 aumentan la expresión citotóxica de la respuesta inmune y secretan IL-12, IFN y TNF inhibiendo la restauración tisular, mientras que las Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6 e IL-3, además de una proliferación de células B y células plasmáticas, jugando un papel sinérgico

entre ambas células Th. Si este balance se ve afectado, entonces progresa la enfermedad inflamatoria. (39)



**Figura 3.** Respuesta inmune periodontal A) Periodonto sano: la masticación estimula la actividad inmune de la mucosa donde los neutrófilos se infiltran a través del surco gingival y las células inmunes residen en el tejido gingival. B) Periodonto con periodontitis: (1) interacción entre el microbioma y células de inmunidad secretan citocinas de las familias IL-1, IL-6, y TNF; (2) macrófagos secretan citocinas; (3) subconjuntos de linfocitos secretan citocinas que activan a los osteoclastos y hay destrucción de tejido.

Creado en Biorender.com. Fuente propia.

### 2.1.16 Rol del proceso inflamatorio en la periodontitis

La respuesta del huésped ante el estímulo inflamatorio induce una disbiosis en regiones subgingivales. Cuando el huésped responde a la acumulación del biofilm, se activa la respuesta inflamatoria, alterando el microbioma y produciendo una disbiosis. (11) Las respuestas inflamatorias ante esta disbiosis generan un incremento del líquido crevicular gingival que degrada el colágeno, también contiene inmunoglobulinas, proteínas séricas, citocinas, quimiocinas, remanentes celulares,

células descamadas del epitelio de la bolsa y péptidos de colágeno derivados de la degradación de colágeno generada por las metaloproteinasas. (40)

Las citocinas proinflamatorias IL-1, IL-6 y TNF tienen efectos pleiotrópicos en la promoción de linfocitos y destrucción tisular. Al unirse con su receptor correspondiente, las IL-1 activan los factores de transcripción relacionados con la activación de células T y secreción de citocinas inflamatorias. Las IL-6 regulan la activación de células B. La familia de TNF puede inducir la apoptosis y necroptosis, así como la destrucción de tejido periodontal. (39–41) Las citocinas también modulan la producción del receptor activador de ligando NF-kappa $\beta$  (RANKL por sus siglas en inglés), quien activa osteoclastos para la resorción ósea. (42)

La IL-1 es secretada al momento del daño celular cuando se activa la respuesta inmune y es activada por proteasas en el espacio extracelular, controlando la respuesta inmune innata, y se eleva en el líquido crevicular de pacientes con periodontitis. La IL-6 también se observa elevada en el líquido crevicular gingival de pacientes con periodontitis y esta es producida por neutrófilos y macrófagos. El TNF es producido por macrófagos y linfocitos, modulando vías inflamatorias que reclutan, activan y ayudan a células inmunes. (42,43)

#### 2.1.17 Daño oxidativo en la periodontitis

El estrés oxidativo (EOx) es un desbalance entre especies reactivas de oxígeno (EROs) y la capacidad de la célula para generar una respuesta antioxidante adecuada, lo cual genera un daño oxidativo. Las EROs son radicales libres de oxígeno y peróxido generados por células en diversos tejidos que en condiciones fisiológicas son neutralizadas por antioxidantes para prevenir el daño en tejido, pero en exceso dañan estructuralmente las células y los procesos de reparación celular se ven afectados. (44) La periodontitis se caracteriza por la generación de EROs debido a la acción de fagocitos en el surco gingival y se generan en respuesta a citocinas y bacterias provocando EOx. (45) Los neutrófilos son los principales productores de EROs en la periodontitis, ya que son la primera línea de defensa y

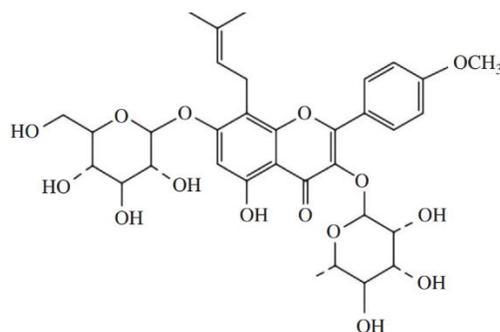
liberan EROs a través de la vía NADPH oxidasa. (46) La respuesta de los polimorfonucleares conlleva el incremento de EROs y, por lo tanto, la destrucción de tejido periodontal. (45) Las EROs causan daño en el tejido a través de peroxidación lipídica, daño en ADN, daño proteico y oxidación enzimática. Los productos de peroxidación lipídica son los derivados de EROs más estudiados en la periodontitis y generan cambios en la función y estructura de las membranas celulares, siendo el malondialdehído (MDA) el más investigado en la periodontitis. (44)

Por otro lado, los EROs provocan la fragmentación de polipéptidos que afectan la actividad funcional de las proteínas. Los grupos carbonilos son productos finales de la oxidación de proteínas generadas por EROs. Estos se asocian con estadios avanzados de periodontitis y se evalúan en líquido crevicular, saliva y suero. (44)

#### 2.1.18 Icarina (ICA)

##### 2.1.18.1 Origen

El género *Epimedium* de la familia Berberidaceae es una hierba originaria de Asia, con un gen de más de 70 especies que se ha utilizado en la medicina tradicional China por siglos. Sus hojas tienen una textura parecida al cuero y sus flores tienen forma colgante de colores con 4 sépalos y 4 pétalos. Esta planta crece lentamente en acantilados bajo humedad y llanos de 200-3700 m sobre el nivel del mar en zonas como China, Corea del Sur y Japón. (47,48)



**Figura 4.** Estructura química de la ICA. (48)

#### 2.1.18.2 Usos de ICA en la medicina tradicional

En la actualidad se han demostrado alrededor de 260 compuestos diferentes en la Herba Epimedii (hojas secas de *Epimedium*), como flavonoides, polisacáridos, aceites esenciales, ácido fenólico, entre otros, y ha sido utilizada de manera tradicional para tratar la impotencia, osteoporosis, menopausia, artritis, hipertensión, espermatorrea, pues muestra efectos anti-osteoporosis, antiinflamatorios, anticáncer y antioxidantes. (48) *Epimedium wushanense* y *Epimedium koreanum* son las principales fuentes de Herba Epimedii en la farmacopea China. Varias dinastías chinas han declarado los diferentes usos de esta hierba, incluyendo el fortalecimiento de huesos, mejora de hígado y riñones y aumento en la energía psíquica. (47)

#### 2.1.18.3 Composición

Los compuestos principales de *Herba Epimedii* son los flavonoides, el más representativo es la ICA que es un flavonoide prenilado. Este compuesto tiene un grupo glucosilo en la posición C-3, un grupo metoxilo en la posición C-4, un grupo prenilo en la posición C-8 y un grupo ramnosa en C-7, su fórmula molecular es  $C_{33}H_{40}O_{15}$  con un peso molecular de 676.67 g/mol (figura 4). Es cristalino y estable en bajas temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 2 años. Cuenta con una baja solubilidad y estabilidad en agua. Su presentación es un polvo amarillento soluble en piridina con un punto de inflamabilidad de  $300.9^{\circ}\text{C}$  y un punto de ebullición de  $948.5^{\circ}\text{C}$ . (47,48) La ICA se extrae por diversos métodos, como la extracción acuosa, la alcohólica y la cromatografía contracorriente de alta velocidad. De igual forma, se usa la adsorción de resina macroporosa que se usa para separar y refinar la ICA después de su extracción. (3)

### 2.1.19 Propiedades antiinflamatorias de la ICA en diversos tejidos

La ICA ha demostrado regular células inmunes como M1, M2, células NK (asesinas naturales, por sus siglas en inglés) y células T como Th1, Th2, Th17, así como citocinas proinflamatorias, jugando un papel directo en la homeostasis y defensa de estímulos dañinos como tumores e infecciones. (3)

Un estudio que investigó el efecto antiinflamatorio de la ICA en el tratamiento de lesión articular de cartílago en un modelo murino y en células murinas de condrocitos encontró que la ICA neutralizó la disminución de la vitalidad de las células provocada por TNF- $\alpha$ , mientras que en los animales la muestra de cartílago tratada con ICA estaba histológicamente más intacta que el grupo que no fue tratado con ICA, aumentó la expresión de matriz extracelular, el efecto del TNF- $\alpha$  se redujo, así como una reducción de MMP-9 en los condrocitos. La ICA inhibió *in vivo* la vía de señalización NF-kB/HIF-2 $\alpha$  la cual está asociada al desarrollo de osteoartritis, demostrando que la ICA protege de la inflamación a los condrocitos. (49)

Un estudio que administró dosis de ICA a ratas con inflamación de colon por envejecimiento demostró una reducción de la expresión de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  en el colon de las ratas de edad más avanzada, así como el daño de las uniones intercelulares estrechas del colon provocadas por citocinas proinflamatorias. (50)

Otro estudio en el que indujeron insuficiencia cardiaca con isoproterenol en ratas Wistar, demostró que el uso de la ICA como tratamiento redujo los niveles de TNF- $\alpha$  significativamente al usar 5 mg/kg por 56 días, además, inhibió la pérdida de funciones sistólica y diastólica y, en conjunto con sildenafil, suprimió la expresión de NF-kB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) y las expresiones alteradas de TNF- $\alpha$  e IL-10 volvieron a la normalidad. (51)

La ICA ofrece actividades farmacológicas en desórdenes del sistema nervioso. Se cree que la ICA disminuye la respuesta inflamatoria de la microglía y reduce la neurotoxicidad por el EOx, además, disminuye la producción de amiloide- $\beta$ , que está relacionada con el desarrollo de Alzheimer, así como la regulación de la

proteína SIRT1, que protege a las neuronas, lo que sugiere que la ICA puede mejorar el Alzheimer. (52)

Un estudio combinó ICA con tratamiento hipotérmico en ratas con un modelo de oclusión arterial cerebral media, demostrando una mejoría en el efecto inhibitorio de hipotermia en infarto, déficit neuronal y muerte cerebral. También demostró una disminución significativa de TNF- $\alpha$  e IL-6, así como una modulación del PPAR, factor Nrf2, NF- $\kappa$ B y el transductor de vía JAK2 y la vía STAT3. (53)

La ICA disminuye los niveles de los receptores de quimiocinas CX3CR1 y CX3CL1, que son clave en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis, reduciendo el área en que los macrófagos se pueden infiltrar. Atenúa la proporción citotóxica de células T, disminuye la expresión de citocinas TNF- $\alpha$  e IL-17, inhibe la expresión de iNOS/ NF- $\kappa$ B para atenuar el daño cardíaco inducido por isoproterenol. Regula la actividad de la proteína SIRT6, inhibe a la fosfatasa y la expresión de la tensina homóloga de la proteína PTEN, teniendo un efecto antiinflamatorio y cardioprotector. (3)

Un estudio muestra el efecto de ICA en el cáncer de pulmón, inhibiendo la progresión de las células cancerígenas al regular las vías de señalización como la P13K/AKT, también inhibe la proliferación e induce apoptosis en células cancerígenas A549 y H358. (54)

Asimismo, en modelos de cáncer de mama, la ICA muestra efectos antitumorales al atenuar el microambiente inmune e incrementa la expresión de SIRT6, inhibiendo la expresión de NF- $\kappa$ B p56 y disminuyendo los niveles de proteína de ligando-muerte programada (PD-L1) en los tumores. (55)

En el caso de carcinoma hepatocelular, el tratamiento con ICA disminuye el número y extensión de células supresoras de mieloides derivado polimorfonucleares (PMN-MDSC) y de tejidos esplénicos al inhibir las actividades de STAT3, además, se logra un aumento de interferones que producen células CD8+T lo que significa que la ICA promueve funciones antitumorales de linfocitos T citotóxicos. (56)

La ICA participa en la remodelación ósea estimulando la expresión de genes como fosfatasa alcalina ósea (ALP), osterix (Osx), RUNX2, proteínas morfogenéticas

óseas BMP-2 y -4. Se ha demostrado en diversos estudios que no afecta la viabilidad celular y no presenta citotoxicidad. (57)

#### 2.1.20 Propiedades antioxidantes de la ICA

La variación entre la producción de EROs y/o especies reactivas de nitrógeno (ERNs) y la capacidad celular de contrarrestar esta variación mediante la defensa antioxidante se conoce como EOX. Cuando se producen excesivamente EROs, estas generan un deterioro oxidativo de las moléculas que se encargan del envejecimiento y varios trastornos como el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares y conllevan la disfunción y muerte celular. (58)

La ICA es un flavonoide prenilado aislado de la planta de género *Epimedium*. Los flavonoides son compuestos con estructuras fenólicas que se encuentran en las vacuolas de las células de las plantas y tienen la capacidad de eliminar especies reactivas de oxígeno. (59,60)

En el estudio previamente mencionado donde indujeron insuficiencia cardiaca con isoproterenol en ratas Wistar, el tratamiento con ICA demostró una disminución significativa de los niveles de MDA en comparación con el grupo que no recibió tratamiento. Por otro lado, la ICA demostró una regulación de los niveles de glutatión reducido (GSH), que es un protector contra daño oxidativo en ADN, y previno una caída del nivel de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), que son enzimas que protegen a las células de los radicales libres. (51)

Un estudio donde se indujo endometriosis con LPS en ratones demostró que el tratamiento con ICA redujo significativamente los niveles de MDA, además, reguló los niveles de SOD1 y CAT. (61)

Un estudio que evaluó las propiedades antioxidantes de la ICA en ovocitos porcinos demostró una reducción del nivel de EROs en ovocitos tratados con ICA en comparación con el grupo sin tratamiento, también se midió el nivel de GSH y se

observó una tinción más intensa en los grupos tratados con ICA en comparación con el grupo sin tratamiento. (62)

Por otro lado, un estudio comparó a la ICA con la indometacina en un modelo animal donde se les inyectó carragenina en la pata y se evaluó el nivel de MDA, GSH, SOD, CAT, glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR). Se observó una disminución de MDA en el grupo ICA en comparación con el grupo sin tratamiento. También se observó un aumento de GSH, SPD, CAT GPx y GR en comparación con el grupo sin tratamiento. (63)

## 2.2 Antecedentes directos del problema

### 2.2.1 Efecto de la ICA sobre el periodonto

Un estudio que aplicó ICA vía inyección local en un modelo de periodontitis en minipigs demostró una mejoría en la regeneración de tejido y hueso en zonas con defectos periodontales. Estos defectos se crearon aplicando una sutura de seda alrededor de la región cervical de los primeros molares para establecer la periodontitis. Se aplicó ICA por medio de una única inyección, clínicamente, el grupo de ICA no mostró enrojecimiento gingival y demostró una recuperación en el margen gingival a un nivel relativamente normal. Usando tomografía computarizada, la ICA demostró un aumento de la altura del hueso alveolar. A través de un estudio histopatológico, se observó una regeneración de las fibras de Sharpey y del ligamento periodontal, se observaron menos células inflamatorias, cemento nuevo y ancho, así como maduro y más cementoblastos. (64)

Otro estudio previo empleó un hidrogel de ICA modificado con nanofibras de carbón (CNF) el cual fue activado con infrarrojo para tratar la periodontitis en un modelo de ratas Sprague Dawley induciendo la periodontitis con ligadura ortodóntica y de seda en los primeros molares inferiores. Se dividieron en 4 grupos de manera aleatoria: grupo control, grupo con periodontitis, grupo ICA con nanofibras de carbón y grupo

ICA con nanofibras de carbón e infrarrojo. El gel fue aplicado por 10 min cada 2 días por 30 días. Después del sacrificio, se analizó histológicamente el tejido, demostrando un aumento de hueso alveolar, una reparación del tejido periodontal y la condición inflamatoria menos severa en el grupo tratado con ICA-nanofibra-infrarrojo en comparación con el grupo sin tratamiento. (65)

Por otro lado, un estudio evaluó el efecto de la ICA en fibroblastos de ligamento periodontal humano en concentraciones de 10, 20 y 50  $\mu\text{m}$ . A través de un estudio de viabilidad celular, encontraron que esta incrementó en los fibroblastos al ser tratados con ICA en los días 2, 3 y 4. También reportaron que la ICA disminuyó la apoptosis celular, la expresión de MMP-1 se redujo, así como una disminución de TLR-4 y de la fosforilación de p65, por lo que sugieren que la vía TLR-4/NF-kB es suprimida por la ICA. (66)

Un estudio reciente en ratones indujo la periodontitis a través de ligadura ortodóntica en los primeros molares superiores y la inoculación de *P. gingivalis*. Se les administró 10  $\mu\text{m}$  de ICA vía oral cada dos días por 6 semanas. Posteriormente, se evaluó a través de estereomicroscopio y se observó una reducción del 37% de la distancia entre la unión amelocementaria y la cresta del hueso alveolar en comparación con el grupo sin tratamiento. Esta distancia en el grupo tratado con ICA se encontró cerca del nivel normal, pues no hubo diferencia significativa comparado con el grupo control, además, se observó clínicamente una reducción de la inflamación. (67)

### 2.3 Planteamiento del problema

La periodontitis es un problema de salud importante debido a su gran prevalencia, pues es una enfermedad crónica inflamatoria que afecta al 19% de la población mundial adulta. (1) En México en 2021, según el Índice Periodóntico Comunitario realizado por la SIVEPAB, el 60% de los pacientes que participaron presentaron al menos un signo de la enfermedad periodontal, (20) la cual se refiere a una enfermedad crónica multifactorial que está asociada con la formación de biofilm

derivado de una disbiosis microbiana y se caracteriza por la destrucción de los tejidos y estructuras de soporte del diente que se manifiesta a través de pérdida de inserción clínica, pérdida de hueso alveolar, presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival. Esta enfermedad conlleva la pérdida de piezas dentales, así como una discapacidad masticatoria. Además, afecta negativamente a la estética dental y representa un riesgo a nivel sistemático, pues está relacionada con enfermedades sistémicas. (16,21)

Durante el tratamiento periodontal se utilizan un conjunto de adyuvantes como soluciones antimicrobianas que ayudan a controlar la inflamación, siendo la CHX el principal agente utilizado, ya que ofrece beneficios antiinflamatorios y antimicrobianos. Sin embargo, presenta desventajas en el paciente que conllevan la tinción dental, glosodimia, descamación de la mucosa oral, inflamación de la glándula parótida, pérdida de sabor, adormecimiento, xerostomía y parestesia oral, por lo que se indica su uso por un periodo de tiempo limitado en casos específicos y bajo supervisión del odontólogo. (2)

En el presente trabajo, se propone evaluar los efectos antiinflamatorios de la ICA en la periodontitis inducida en un modelo de ratas Wistar para poder proponer una alternativa de tratamiento de origen natural como lo es la ICA, un compuesto derivado de la planta de origen chino del género *Epimedium* que ofrece beneficios antiinflamatorios en diversos sistemas. (3) El uso de la ICA en la periodontitis ha sido poco explorado, se han hecho estudios en modelos murinos y en minipigs, así como en células periodontales, y se ha evaluado el nivel de pérdida ósea, marcadores óseos y marcadores inflamatorios. Este estudio aborda el tratamiento coadyuvante por medio de una propuesta de origen natural en un modelo animal con el fin de medir los efectos antiinflamatorios para demostrar su eficacia en la periodontitis inducida.

### III. JUSTIFICACIÓN

La periodontitis es una enfermedad progresiva que es prevenible. Se produce por una disbiosis en la microbiota oral, lo que conlleva la inflamación; este signo se presenta como gingivitis y en este punto es reversible si se hace un cambio de hábitos y se retiran y controlan los factores de riesgo. (14,15) Sin embargo, cuando la gingivitis no es atendida, la disbiosis en conjunto con los factores de riesgo y la poca higiene dental y nutricional provocan signos irreversibles como son la pérdida de hueso alveolar, inflamación del ligamento periodontal, formación de bolsas periodontales y pérdida de inserción clínica. Este conjunto de signos pone en riesgo la permanencia de los dientes, pues el periodonto es el soporte de estos, por lo que es importante su manejo terapéutico. El tratamiento conlleva varias etapas y se suelen utilizar adyuvantes. (16,25)

Debido a que el tratamiento adyuvante de primera elección presenta efectos adversos serios, (2) se ha buscado una propuesta alternativa de origen natural para evaluar sus efectos antiinflamatorios como tratamiento adyuvante de la periodontitis inducida en un modelo animal. La ICA, que es un flavonoide altamente utilizado en diversas patologías como el cáncer, es un compuesto natural derivado de la planta *Epimedium* que se ha utilizado por miles de años en la cultura China y presenta actividades antiinflamatorias en diversos sistemas como el cardiovascular, nervioso y en cáncer. (3)

Si bien se han realizado estudios respecto a la ICA, los beneficios que tiene sobre la periodontitis han sido poco explorados, por lo cual es un área de oportunidad para demostrar su posible uso en la periodontitis. En este sentido, este estudio da pie a su posible uso en el tratamiento adyuvante de la periodontitis en seres humanos pues tiene como finalidad dejar un antecedente sobre los beneficios que se puedan observar en la periodontitis inducida en un modelo animal.

Con este estudio se busca brindar una opción natural al tratamiento periodontal que evite el uso de agentes químicos que son dañinos para la salud del paciente.

#### **IV. HIPÓTESIS**

La ICA tendrá actividad antiinflamatoria y antioxidante en la periodontitis inducida en un modelo de ratas Wistar.

#### **V. OBJETIVOS**

##### 5.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antiinflamatoria y antioxidante de la ICA en la periodontitis inducida en un modelo de ratas Wistar.

##### 5.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto antiinflamatorio del tratamiento de la ICA en un modelo de inducción de periodontitis en ratas Wistar.
2. Valorar el efecto antiinflamatorio del tratamiento de ICA en un modelo de periodontitis inducido a través del análisis histológico del tejido periodontal y conteo de linfocitos.
3. Evaluar el efecto antioxidante del tratamiento de ICA en un modelo de periodontitis inducido mediante la medición de MDA y la carbonilación de proteínas.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1 Contexto de la investigación**

Esta investigación se llevó a cabo en el estado de Hidalgo, en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), en el Instituto de Ciencias de la Salud (ICSa), en el bioterio del mismo instituto durante el periodo de enero 2024 a julio 2025. Las muestras se evaluaron y analizaron en el laboratorio de toxicología de la misma universidad. Durante el periodo de octubre de 2024 a marzo de 2025, las muestras de tejido periodontal se procesaron y evaluaron histológicamente en el área de patología del Hospital del Niño DIF Hidalgo. La población estuvo comprendida por ratas Wistar. Los modelos de periodontitis inducida en roedores han proporcionado una gran cantidad de información sobre el proceso de la enfermedad periodontal y han sido ampliamente utilizados para probar nuevos compuestos terapéuticos. El proyecto fue aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la UAEH con el número de aceptación CICUAL-V-I/07/2024.

#### **6.1.1 Tipo y diseño de estudio**

El diseño de estudio de esta investigación es experimental.

### **6.2 Selección de la población, criterios de inclusión y exclusión**

#### **6.2.1 Criterios de inclusión**

- Ratas Wistar macho de 6-8 semanas de edad provenientes del bioterio del ICSa-UAEH.

- Animales con respuesta positiva del proceso de inducción de la periodontitis.
- Animales que no presenten otras condiciones sistémicas.
- Animales que presenten condiciones periodontales adecuadas.

### 6.2.2 Criterios de exclusión

- Animales que presentaron anodoncia.
- Animales con anormalidades en forma y tamaño de órganos dentarios.
- Animales con algún proceso inflamatorio previo en el periodonto.
- Animales con erupción tardía o retención dental.

### 6.3 Tamaño de muestra y muestreo

Se utilizaron 66 ratas Wistar macho de 6-8 semanas de edad adquiridas en el bioterio del ICSa-UAEH. El tamaño de muestra fue calculado con base en incidencias seriadas en los procedimientos de acuerdo a la siguiente fórmula  $X=N/(A/100) \times (B/100)$  Donde: X=Número de animales final necesarios; N=Número mínimo estadístico; A=100-% incidencia (100-30% incidencia de mortalidad por sedación); B=100-% incidencia (100-20% incidencia por bacteriemia) (68).

$$X=N/(A/100)(B/100)$$

$$X= 9/(70/100)(80/100)$$

$$X= 16.07$$

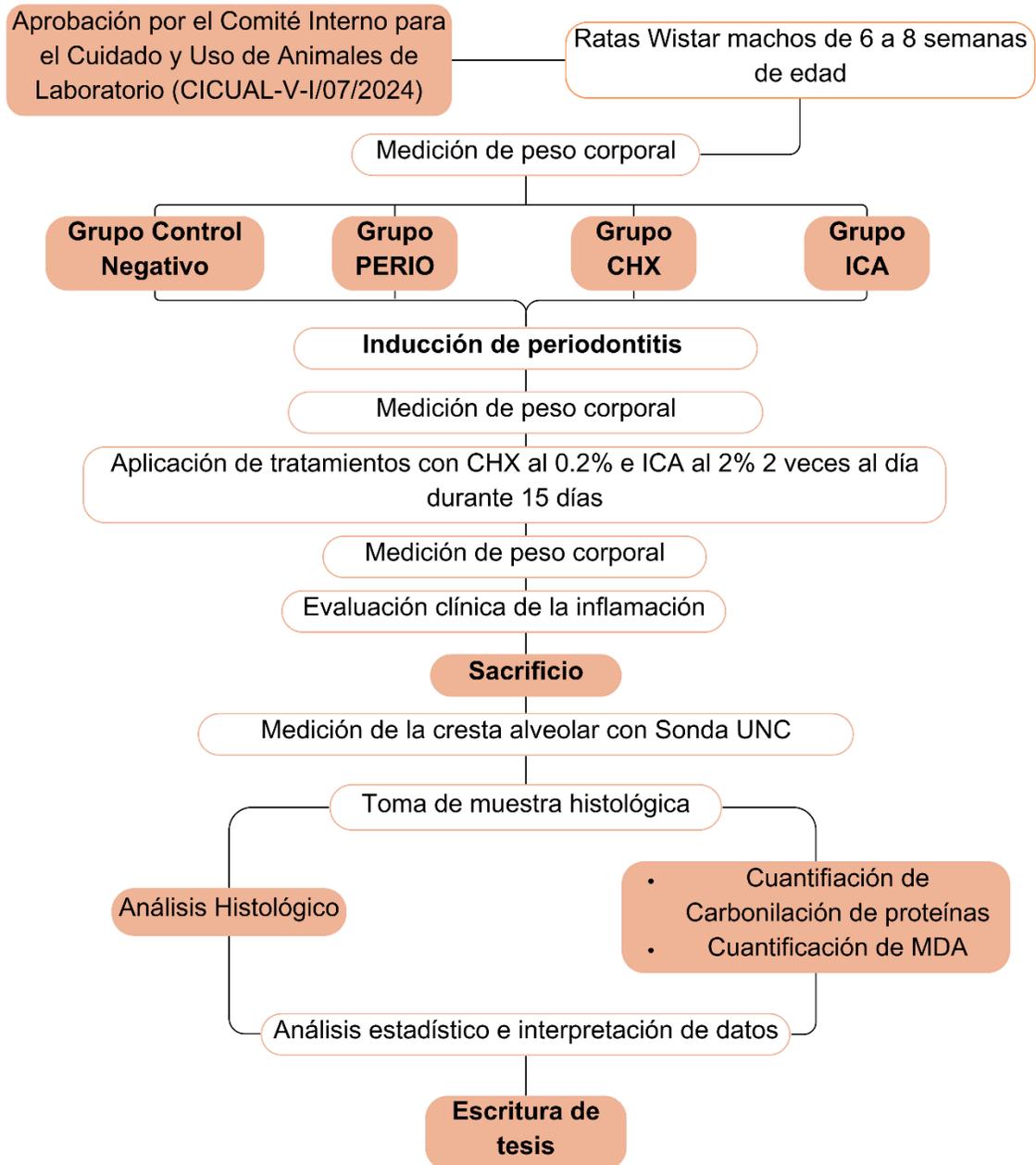
$$X= 16 \text{ animales}$$

**16 animales X 4 grupos = 64 animales**

Se formaron 4 grupos de animales en forma aleatoria conformados por 16 animales cada grupo tomados al azar, los cuales se organizaron de la siguiente manera:

- Grupo Control Negativo (CN): animales sin tratamiento.
- Grupo Periodontitis (PERIO): animales con inducción de periodontitis experimental sin tratamiento.
- Grupo Clorhexidina (CHX): Inducción de periodontitis + tratamiento con clorhexidina 0.2%.
- Grupo Icarina (ICA): Inducción de periodontitis + tratamiento con ICA 2%.

## 6.4 Diagrama de diseño experimental



## 6.5 Definición de variables

**Tabla 3. Definición de variables**

<b>Variable</b>	<b>Tipo</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Unidad de medida</b>
<b>Inflamación</b>	Dependiente	Inflamación gingival	Se evalúa clínicamente	SI/NO
<b>Bolsa Periodontal</b>	Dependiente	Surco gingival patológicamente profundizado que rodea el diente en el nivel del margen gingival.	Se evalúa mediante el uso de una sonda UNC	Mayor o igual a 3 mm
<b>Concentración del Compuesto ICA</b>	Independiente	Icarina		Porcentaje de concentración 2%
<b>Clorhexidina</b>	Independiente	Clorhexidina		Porcentaje de concentración 0.2%
<b>Cuantificación de linfocitos</b>	Dependiente	Linfocitos	Se evalúa de manera histológica a través del microscopio por campo visual	Número de linfocitos por campo visual (+)-10 linfocitos (++) 10-30 linfocitos (+++)+ 30 linfocitos
<b>Daño celular a través de carbonilación de proteínas</b>	Dependiente	Oxidación de proteínas promovidas por especies reactivas de oxígeno	Se evalúa a través de la medición de carbonilos en tejido	nmol/mg proteína
<b>Medición de MDA a través de peroxidación lipídica</b>	Dependiente	Malondialdehído	Se evalúa a través de la medición de MDA en tejido	nM/mg tejido

## 6.6 Inducción de la periodontitis en modelo experimental

### 6.6.1 Procedimiento

El modelo de inducción de periodontitis en ratas Wistar se realizó con base en el protocolo de Ionel et al. (69) estandarizada en el laboratorio previamente por Izquierdo-Vega. (70) Para el procedimiento se utilizó Avertin (250 mg/kg i.p.), un anestésico utilizado en roedores para procedimientos quirúrgicos, en los grupos experimentales de PERIO, CHX e ICA.

Se colocó una ligadura de seda 3-0 USP en la zona interproximal de los incisivos inferiores. Se evaluó el proceso de evolución de la enfermedad periodontal diariamente durante siete días y se registró el cuadro de periodontitis, el proceso inflamatorio y la aparición de la bolsa periodontal en los animales.

Los animales se mantuvieron en cuartos con una temperatura de 22+/-2 °C, con una humedad relativa de 50%, con ciclos de luz oscuridad de 12 h, con libre acceso a agua y alimento. A todos los grupos se les alimentó con dieta estándar de laboratorio para roedores (Formulab 5008; Purina Mills, St Louis, MO). Se registró diariamente el peso de los animales con el uso de una báscula digital para asegurar que el proceso de inducción de periodontitis no afectara el consumo de alimento diario y el crecimiento en los animales.

## 6.7 Tratamiento de la periodontitis en modelo experimental

### 6.7.1 Preparación de la ICA

Se disolvieron 20 mg de ICA (SIGMA-Aldrich) en 5 ml de etanol absoluto (SIGMA-Aldrich) y se adicionaron 5 ml de goma xantana al 2% (peso/volumen) en agua destilada, obteniendo un gel de ICA al 2% (peso/volumen) de concentración. Dicho compuesto se almacenó a 4 °C durante el periodo del tratamiento.

### 6.7.2 Procedimiento de aplicación de tratamiento

A partir del día 8, después de verificar el cuadro de periodontitis, se aplicó el tratamiento correspondiente a cada grupo experimental (grupo CHX gel de clorhexidina al 0.2% de la marca BEXIDENT® de ISDIN y grupo ICA gel de Icarina al 2%) 2 veces al día (a las 8 am y a las 5 pm) durante 15 días de forma tópica utilizando un micro aplicador en la zona de la lesión periodontal dejándolo actuar durante 1 h (retirando el alimento y agua durante 1h).

### 6.7.3 Sacrificio de animales

Al finalizar los tratamientos, se sacrificaron a los animales en una cámara de CO<sub>2</sub> y posteriormente se obtuvieron las mandíbulas de las ratas para realizar el análisis histológico. Se retiró el tejido gingival de los grupos experimentales y se midió el nivel de la cresta alveolar con una sonda UNC. Posteriormente, se realizó la medición de MDA y la cuantificación de carbonilos.

### 6.7.4 Medición de la cresta alveolar

Después del retiro de tejido gingival, se midió el nivel de la cresta alveolar con una sonda UNC a todos los grupos experimentales.

## 6.8 Histología en mandíbulas

Después de la extracción de las mandíbulas de los animales, se lavaron las mandíbulas con solución salina (NaCl 0.9% estéril) y se colocaron en formol al 4%

(SIGMA-Aldrich) amortiguado con PBS (solución salina tamponada con fosfato). Posteriormente, se sumergieron en solución descalcificante de ácido nítrico al 7% (SIGMA-Aldrich) de 28-32 h hasta poder cortar como mantequilla con una hoja de bisturí los tejidos dental y óseo, obteniendo un corte sagital limpio. Posteriormente, el tejido descalcificado se lavó con agua corriente y se colocó en bicarbonato de sodio (SIGMA-Aldrich) al 10% en agua durante 24 h. Los tejidos fijados se deshidrataron pasándose a través de concentraciones crecientes de alcohol hasta llegar al alcohol absoluto (80°, 90°, 96° y alcohol absoluto) durante 1 h en cada concentración de alcohol, luego se clarificaron con xilol al 50% y xilol absoluto durante 1 h en cada uno y, finalmente, las muestras se incluyeron en parafina absoluta a 53-56 °C durante 1 h. Posteriormente, se colocaron en parafina absoluta dos veces con una diferencia entre inmersión de 1 h. Se colocaron en moldes para formar bloques de parafina, se llevaron a frío y se solidificaron por completo. Se realizaron cortes de 4 µm de espesor en un microtomo, los cortes se pasaron por baño María a 50°C y se colocaron en un portaobjetos, posteriormente, se secaron en una parrilla a 40 °C. Las laminillas se tiñeron con hematoxilina y eosina y se colocaron en la parrilla a 40 °C durante 20 minutos. Para el montaje se colocó resina natural y encima un portaobjetos para su preservación y su posterior lectura al microscopio óptico.

## 6.9 Evaluación de daño oxidativo en el tejido periodontal

### 6.9.1 Cuantificación de malondialdehído en el tejido periodontal

La peroxidación lipídica resulta en productos de oxidación secundarios como el MDA. Este ha sido usado como biomarcador de peroxidación lipídica y determinante de EOX en situaciones clínicas; se detecta a través de espectrofotometría. El MDA reacciona con ácido tiobarbitúrico (TBA) formando MDA-TBA que se absorbe en un espectro a 532 nm y produce una coloración rosada (71).

En tubos de 15 ml se colocaron 100 µL del homogenado y 200 µL de solución TBA por triplicado. Para el blanco se colocaron 100 µL de agua desionizada. La mezcla

se homogenizó con vórtex y se colocó en baño maría a 90 °C por 40 minutos. Posteriormente, se colocaron en hielo para detener la reacción y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. Seguido, se colocaron 150 µL de la muestra en una microplaca y se leyeron en el espectrofotómetro a 532 nm.

#### 6.9.2 Cuantificación de carbonilos en el tejido periodontal

La carbonilación de proteínas es de las modificaciones oxidativas más comunes y es un subproducto final de múltiples vías de oxidación que ocurren en la célula, lo que lo hace un marcador de EOX importante. El contenido de carbonilos de proteínas individuales puede evaluarse a través de la derivatización del grupo carbonilo con dinitrofenilhidrazina (DNPH) que forma un producto estable de dinitrofenilhidrazona (DNP) y se puede analizar espectrométricamente. El principal mecanismo de carbonilación de proteínas implica la acción directa de especies reactivas de oxígeno (72).

La carbonilación de proteínas en tejido gingival se realizó utilizando un kit de Sigma Aldrich. En tubos de 1.5 mL se colocaron 100 µl de homogenado con Tritón (0.1 % en PBS) y 10 µl de estreptozocina (10%). Se incubaron 15 min para posteriormente centrifugar la mezcla a 13000 g durante 5 min. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo, se colocaron 100 µl de DNPH durante 10 min a temperatura ambiente, luego se agregó 30 µl de ácido tricloroacético al 87% y se mezclaron en vórtex vigorosamente e incubaron en hielo durante 5 minutos. Las muestras fueron centrifugadas a 13000 g durante 3 minutos y se eliminó el sobrenadante. A continuación, se agregó 500 µl de acetona fría, se mezcló en vórtex y luego se incubó durante 5 min a -20 °C. Se centrifugó a 13000 g durante 3 minutos y el sedimento de proteína finalmente se disolvió en 500 µl de clorhidrato de guanidina 6 M mezclando en vórtex. Se depositaron 100 µl de cada muestra en la placa de 96 pozos y se leyó en el espectrofotómetro a 375 nm.

## 6.10 Análisis estadístico

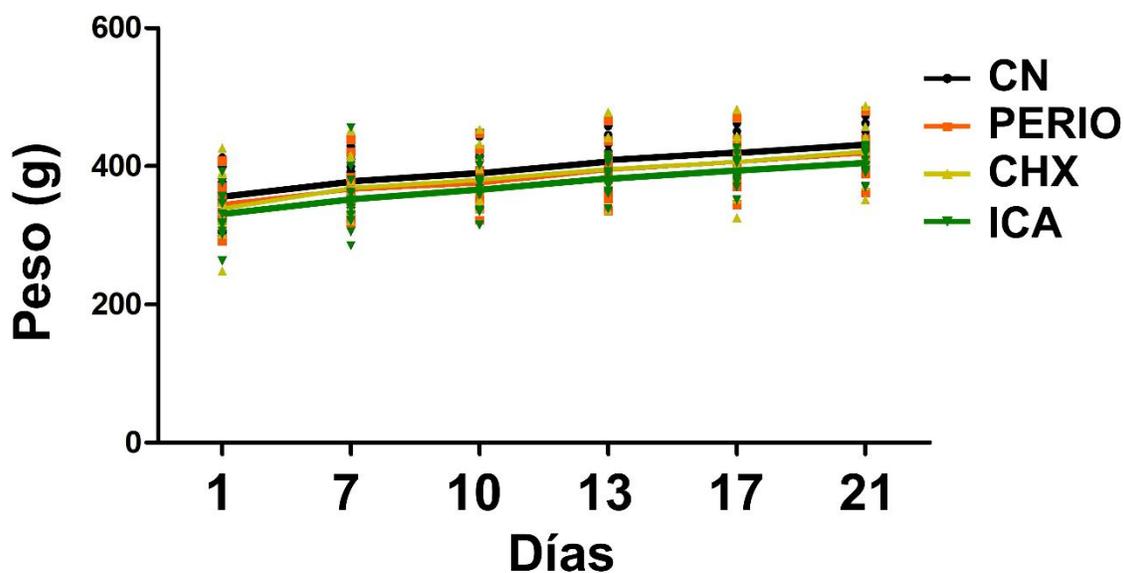
Los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con una prueba post hoc de Tukey con un intervalo de confianza del 95 % para la medición del nivel de la cresta alveolar, MDA y carbonilos. Para la cantidad de linfocitos observados por campo visual, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para grupos independientes. Se utilizó el software SPSS Statistics 28.0.1.0

## VII. RESULTADOS

### 7.1 Efecto de la periodontitis inducida en modelo experimental

#### 7.1.1 Peso corporal

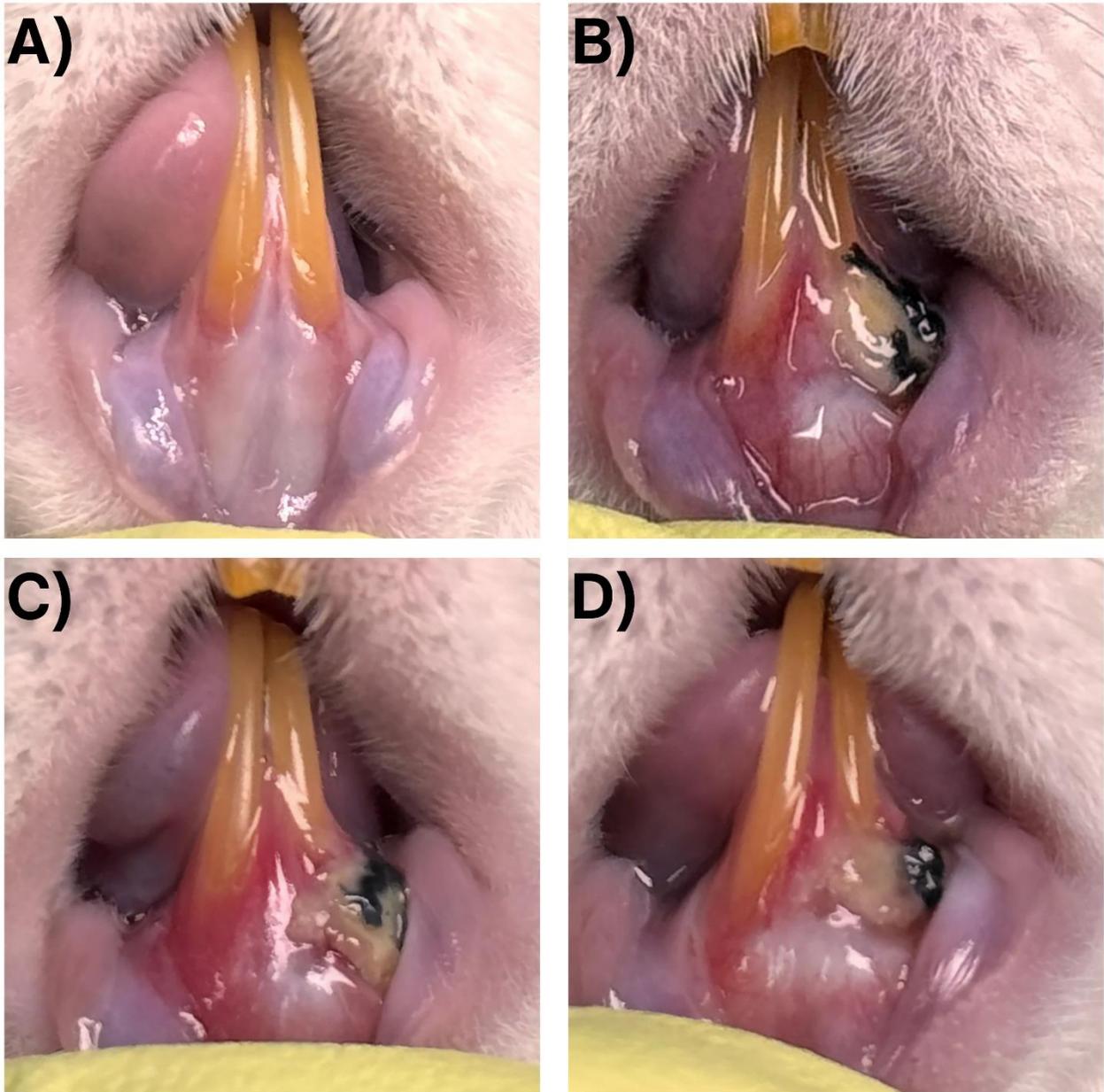
El crecimiento y desarrollo de los animales no se afectaron por el proceso de inducción de periodontitis, tampoco se modificó el consumo de alimento y agua en los animales (datos no mostrados). En la figura 6 se observa la tendencia de crecimiento promedio de los animales de cada grupo experimental, sugiriendo que el proceso de inducción experimental no afectó el desarrollo y crecimiento de los animales.



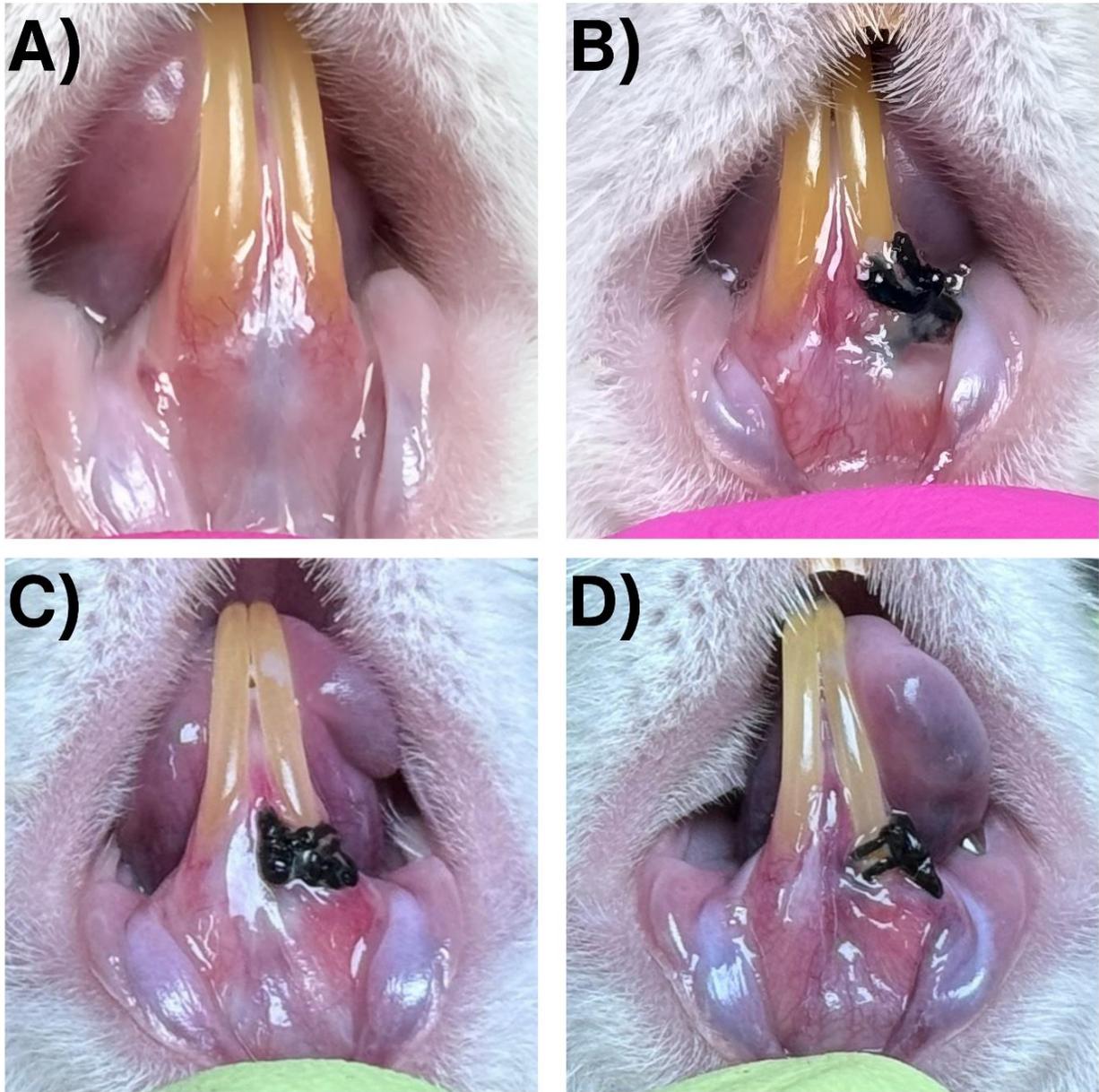
**Figura 6.** Tendencia de crecimiento promedio de los animales de cada grupo experimental.

## 7.2 Efectos clínicos de la ICA en la periodontitis inducida

Se examinó visualmente el progreso clínico de la inflamación en los grupos sometidos a la inducción de periodontitis y aquellos que fueron tratados con ICA y CHX evidenciando con fotografías. (Figuras 8-11). El grupo de PERIO mostró una inflamación significativa vs el grupo CN, lo que demuestra el éxito de la inducción de la periodontitis en el modelo animal. En el ámbito clínico, se observó una disminución de la inflamación que comprende el enrojecimiento y la tumoración en los grupos CHX e ICA al finalizar el tratamiento en comparación con el grupo PERIO, sugiriendo que los tratamientos utilizados disminuyen los signos clínicos de la inflamación durante las dos semanas posteriores a la implementación de los tratamientos. Entre los grupos CHX e ICA no se observó una diferencia clínica a las dos semanas de utilizar los tratamientos, lo que sugiere que el tratamiento con ICA ofreció resultados clínicos similares a los del tratamiento con CHX al reducir los signos clínicos de la inflamación. En las figuras 8-11 se observa la evolución de los distintos grupos durante el tratamiento y posterior al sacrificio. En la figura 12 se comparan clínicamente los 4 grupos experimentales a las dos semanas del inicio del tratamiento.



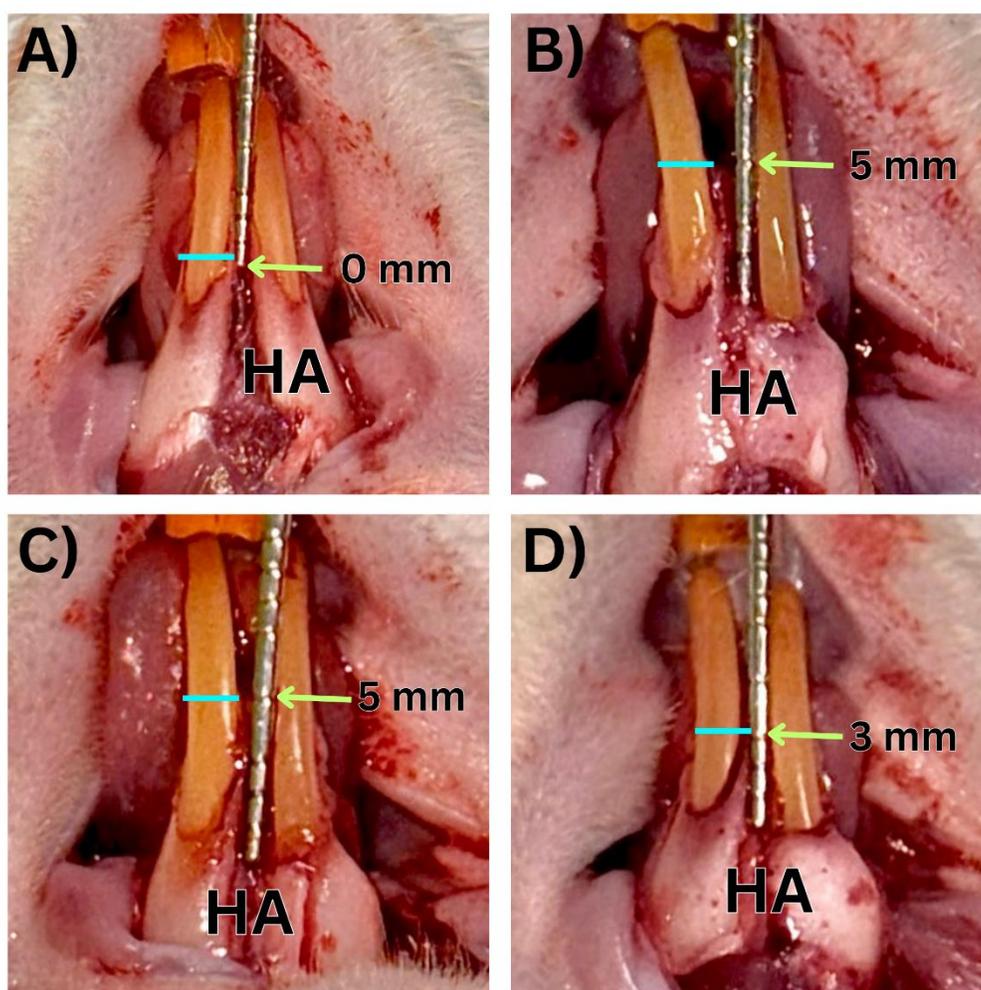
**Figura 7.** Comparación entre grupos experimentales posterior a la inducción de la periodontitis, previo al inicio del tratamiento. A) Grupo CN sin inflamación clínica. B) Grupo PERIO, se observa inflamación clínica con signos de tumoración en la encía, una encía rojiza y fibrosis en zona de lesión. C) Grupo CHX, se observa una encía rojiza con tumefacción y fibrosis en zona de lesión. D) Grupo ICA, se observa tumefacción, signos de inflamación clínica y fibrosis en zona de lesión.



**Figura 8.** Comparación entre grupos experimentales después de dos semanas del inicio del tratamiento. A) Grupo CN sin inflamación clínica. B) Grupo PERIO, se observa inflamación clínica con signos de tumefacción en la encía y una encía rojiza. C) Grupo CHX, se observa una encía rosada sin tumefacción. D) Grupo ICA, se observa encía rosada y sin tumefacción.

### 7.2.1 Medición del nivel de la cresta alveolar

Pasados 30 minutos al sacrificio y después de retirar el tejido gingival, se midió el nivel de la cresta alveolar de los diferentes grupos experimentales, observando una pérdida de la cresta alveolar en los grupos PERIO, CHX e ICA (Figura 7 y tabla 4). Se realizó una prueba de ANOVA de una vía con una prueba post hoc de Tukey (tablas 5-7). El grupo CN resultó significativamente diferente al resto de los grupos ( $p < 0.001$ ). No se observó una diferencia significativa en el grupo CHX vs grupo PERIO ( $p = 0.421$ ), tampoco hubo diferencia significativa comparando CHX vs el



**Figura 9.** Medición con Sonda UNC de la pérdida del nivel de la cresta alveolar 30 minutos posterior al sacrificio y después de retirar tejido gingival, donde HA es hueso alveolar descubierto, la línea azul señala la cresta ósea y la flecha señala la medición con sonda de la pérdida de la cresta ósea. A) Grupo CN, 0 mm B) Grupo PERIO, 5 mm. C) Grupo CHX, 5 mm. D) Grupo ICA, 3 mm.

grupo ICA ( $p=0.421$ ). Al comparar el grupo ICA vs el grupo PERIO, se observó diferencia significativa ( $p<0.020$ ).

**Tabla 4. Prueba de ANOVA de un factor para la medición del nivel de la cresta alveolar en mm**

	F	gl1	gl2	p
Cresta Alveolar	186	3	32	< 0.001

**Tabla 5. Prueba Post-Hoc de Tukey para la medición del nivel de la cresta alveolar**

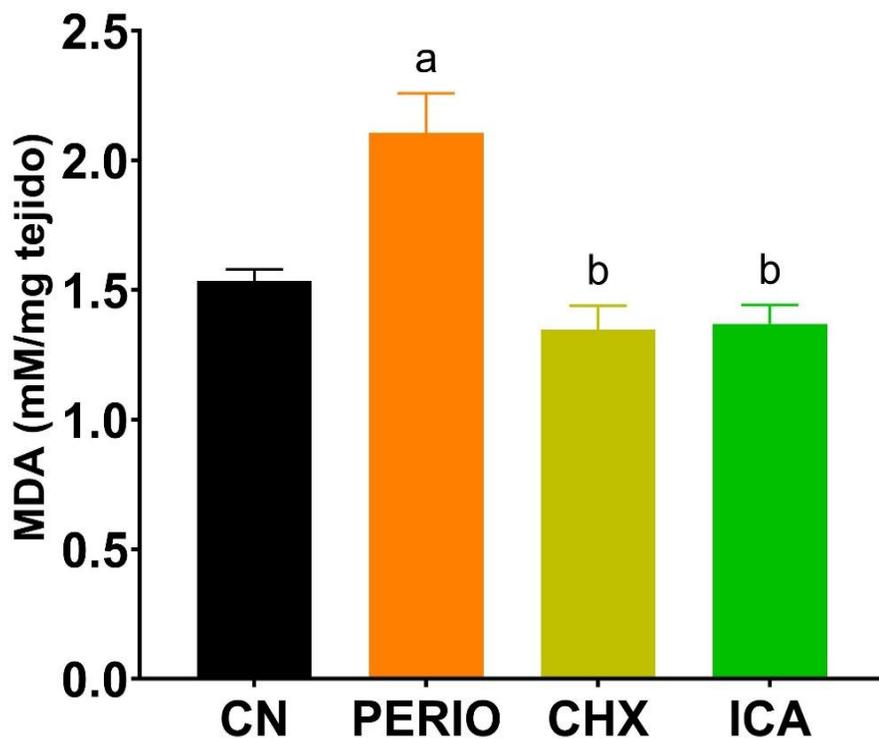
		CN	PERIO	CHX	ICA
CN	Diferencia de medias	—	-4.440	-4.111	-3.778
	valor p	—	< 0.001	< 0.001	< 0.001
PERIO	Diferencia de medias		—	0.333	0.667
	valor p		—	0.421	0.020
CHX	Diferencia de medias			—	0.333
	valor p			—	0.421
ICA	Diferencia de medias				—
	valor p				—

### 7.3 Efecto de la ICA sobre el daño oxidativo periodontal inducido

#### 7.3.1 Efecto de la ICA sobre la cuantificación de malondialdehído en la periodontitis experimental inducida

La cuantificación de MDA se realizó en todos los grupos experimentales (Tablas 8-10, Figura 13). Se realizó una prueba de ANOVA de una vía con una prueba Post Hoc de Tukey para la comparación entre los grupos experimentales y se observó una diferencia significativa en la cuantificación de MDA del grupo PERIO vs el grupo CN ( $p<0.001$ ), sugiriendo daño oxidativo en la encía durante el proceso de

inducción de periodontitis experimental. En cuanto al grupo ICA disminuyó significativamente la concentración de MDA vs el grupo PERIO ( $p < 0.001$ ). El mismo efecto se observó con el grupo de CHX vs el grupo PERIO ( $p < 0.001$ ), lo que indica su efectividad de protección contra el daño oxidativo en la periodontitis inducida. En los grupos de CHX y de ICA, no se observaron diferencias significativas entre ellos y tampoco vs el grupo CN ( $p=0.079$  y  $p=0.133$  respectivamente) sugiriendo que ambos tratamientos tienen la misma efectividad contra el daño oxidativo inducido por la periodontitis.



**Figura 10.** Cuantificación de Malondialdehído en tejido gingival. Valores expresados como media  $\pm$  desviación estándar, ANOVA realizada con prueba post Hoc de Tukey; a vs CN  $p < 0.001$ , b vs PERIO  $p < 0.001$ .

**Tabla 6. Prueba de ANOVA de una vía para la medición de MDA (mM/mg tejido) en los grupos experimentales**

MDA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.515	3	0.505	52.004	< 0.001
Dentro de grupos	0.116	12	0.010		
Total	1.631	15			

**Tabla 7. Prueba Post Hoc de Tukey para la medición de MDA (mM/mg tejido)**

Variable dependiente: MDA

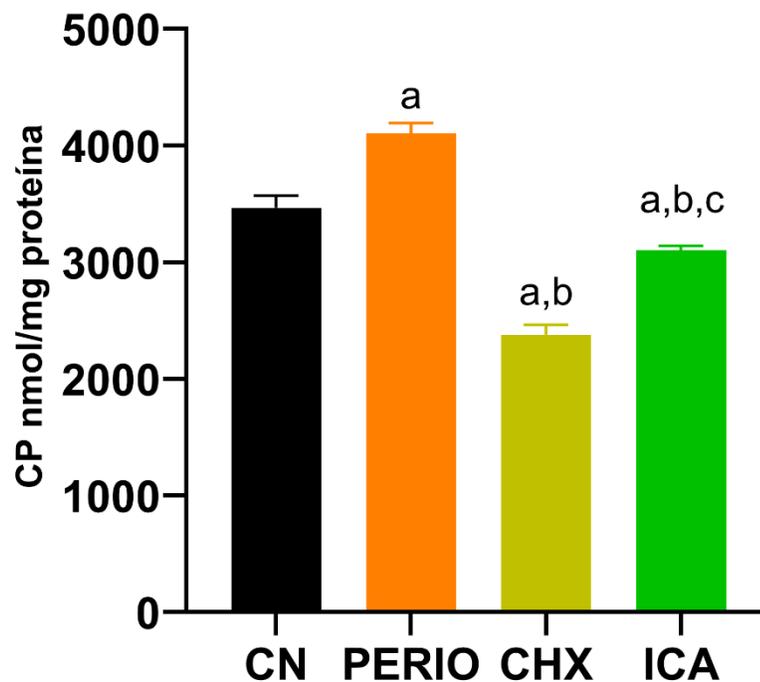
HSD Tukey

(I) Grupo	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CN	PERIO	-0.572*	0.069	< 0.001	-0.778	-0.365
	CHX	0,188	0.069	0.079	-0.018	0.395
	ICA	0.166	0.069	0.133	-0.040	0.373
PERIO	CN	0.572*	0.069	< 0.001	0.365	0.778
	CHX	0.760*	0.069	< 0.001	0.553	0.967
	ICA	0.738*	0.069	< 0.001	0.531	0.945
CHX	CN	-0.188	0.069	0.079	-0.395	0.018
	PERIO	-0.760*	0.069	< 0.001	-0.967	-0.553
	ICA	-0.022	0.069	0.988	-0.228	0.184
ICA	CN	-0.166	0.069	0.133	-0.373	0.040
	PERIO	-0.738*	0.069	< 0.001	-0.945	-0.531
	CHX	0.022	0.069	0.988	-0.184	0.228

\*Indica la diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

### 7.3.2 Efecto de la ICA sobre la cuantificación de carbonilos en la periodontitis experimental inducida

La valoración de carbonilos en la encía de las ratas experimentales se observa en las Tablas 11-13 y Figura 14. Se realizó una prueba de ANOVA de una vía con una prueba Post Hoc de Tukey para la comparación entre los grupos experimentales y se obtuvo una diferencia significativa entre todos los grupos experimentales ( $p < 0.001$ ) en los niveles de carbonilos en tejido periodontal. En el grupo PERIO se observó un aumento significativo de concentración de carbonilos vs el grupo control ( $p < 0.001$ ) En cuanto al grupo ICA, disminuyó significativamente la concentración de carbonilos vs el grupo PERIO ( $p < 0.001$ ), lo que indica su efectividad de protección contra el daño oxidativo por carbonilos en la periodontitis inducida. El grupo CHX disminuyó significativamente la concentración de carbonilos vs el grupo PERIO ( $p < 0.001$ ) y también mostró una disminución significativa vs el grupo ICA ( $p < 0.001$ ).



**Figura 11.** Cuantificación de Carbonilos en tejido gingival. Valores expresados como media  $\pm$  desviación estándar, ANOVA realizada con prueba post Hoc de Tukey; a vs CN  $p < 0.001$ , b vs PERIO  $p < 0.001$ , c vs CHX  $p < 0.001$ .

**Tabla 8. Prueba de ANOVA de una vía para la cuantificación de Carbonilos (nmol/mg proteína) en los grupos experimentales**

CP nmol/mg proteína						
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
<b>Entre grupos</b>	6222173.456	3	2074057.819	300.553	< 0.001	
<b>Dentro de grupos</b>	82809.730	12	6900.811			
<b>Total</b>	6304983.186	15				

**Tabla 9. Prueba Post Hoc de Tukey para la cuantificación de Carbonilos (nmol/mg proteína)**

Variable dependiente: CP nmol/mg proteína

HSD Tukey

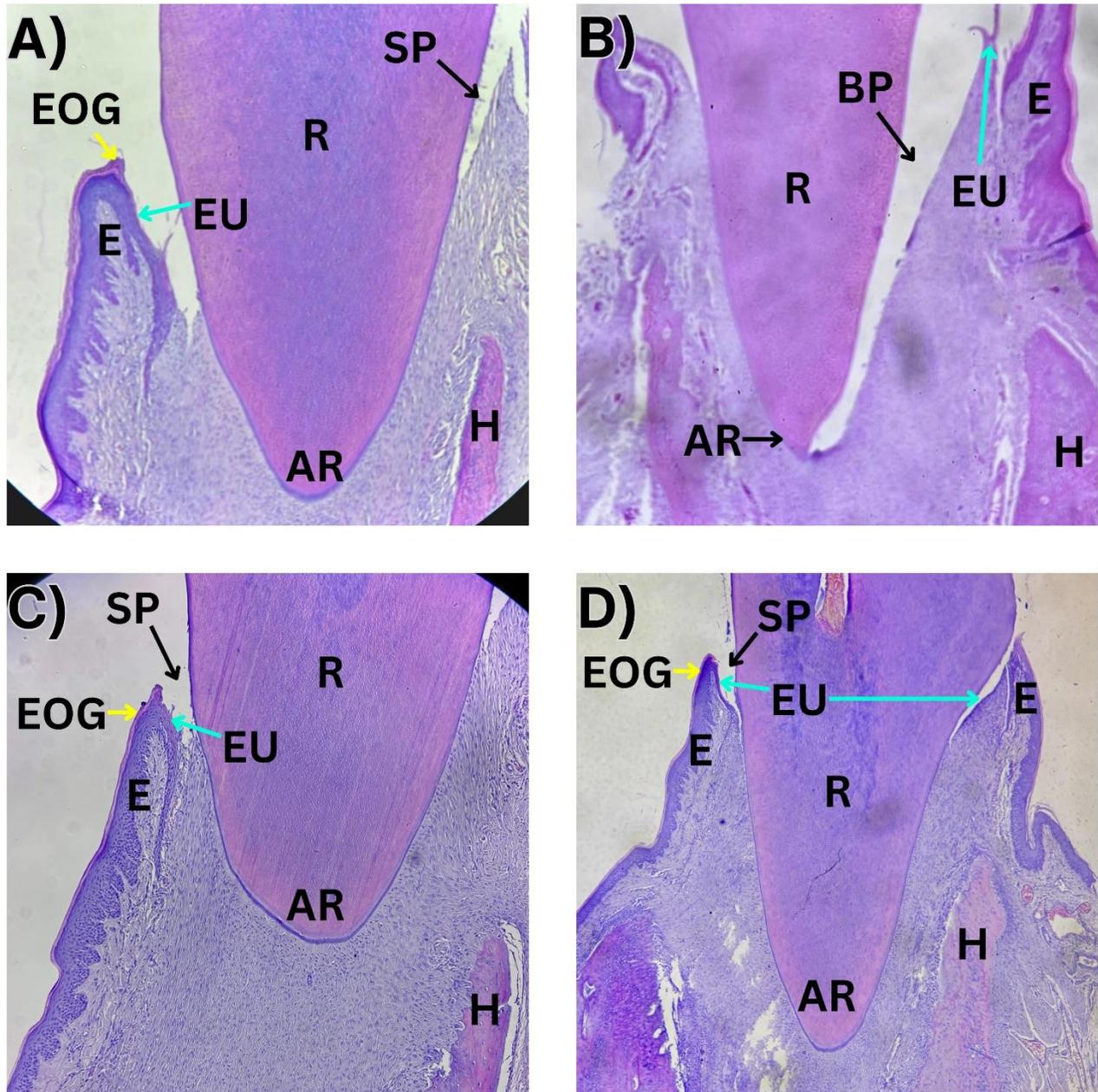
(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CN	PERIO	-633.53*	58.74	< 0.001	-807.92	-459.14
	CHX	1091.00*	58.74	< 0.001	916.61	1265.4
	ICA	364.26*	58.74	< 0.001	189.87	538.65
PERIO	CN	633.53*	58.74	< 0.001	459.14	807.92
	CHX	1724.54*	58.74	< 0.001	1550.15	1898.93
	ICA	997.8*	58.74	< 0.001	823.4	1172.19
CHX	CN	-1091.00*	58.74	< 0.001	-1265.4	-916.61
	PERIO	-1724.54*	58.74	< 0.001	-1898.93	-1550.15
	ICA	-726.74*	58.74	< 0.001	-901.13	-552.35
ICA	CN	-364.26*	58.74	< 0.001	-538.65	-189.87
	PERIO	-997.8*	58.74	< 0.001	-1172.19	-823.40
	CHX	726.74*	58.74	< 0.001	552.35	901.13

\*Indica la diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

## 7.4 Histología periodontal

### 7.4.1 Análisis histológico del efecto de la ICA sobre el tejido periodontal experimental.

Se realizó una evaluación histológica en cada grupo experimental mediante el uso de un microscopio óptico Olympus CX22LED (Tokio, Japón). Se evaluó el tamaño del espacio del surco periodontal en los diferentes grupos experimentales, observando una diferencia entre ellos. El grupo CN se mostró con una continuidad en la inserción radicular, así como un surco normal en la porción vestibular, la encía se observó continua y organizada. En el grupo de PERIO se observó una discontinuidad de la inserción de la raíz que resultó en la formación de una bolsa periodontal en la zona vestibular que se extiende hasta la porción apical de la raíz del diente; la encía se observó destruida y desorganizada, además de un epitelio de unión desorganizado. El grupo de CHX resultó con una continuidad en la inserción radicular que se extiende hasta la porción apical radicular y una reducción del tamaño del surco periodontal, tanto en vestibular como en lingual, así como una encía organizada y continua en comparación con el grupo PERIO. Por último, en el grupo ICA se observó una continuidad de la inserción de la encía en la raíz, así como un tamaño menor del surco periodontal, tanto en vestibular como en lingual, en comparación con los grupos PERIO y CHX, la encía se observó organizada y continua, que recubre al ápice dental, el epitelio de unión se observó continuo e intacto. La Figura 15 muestra la comparación histológica de los diferentes grupos experimentales.



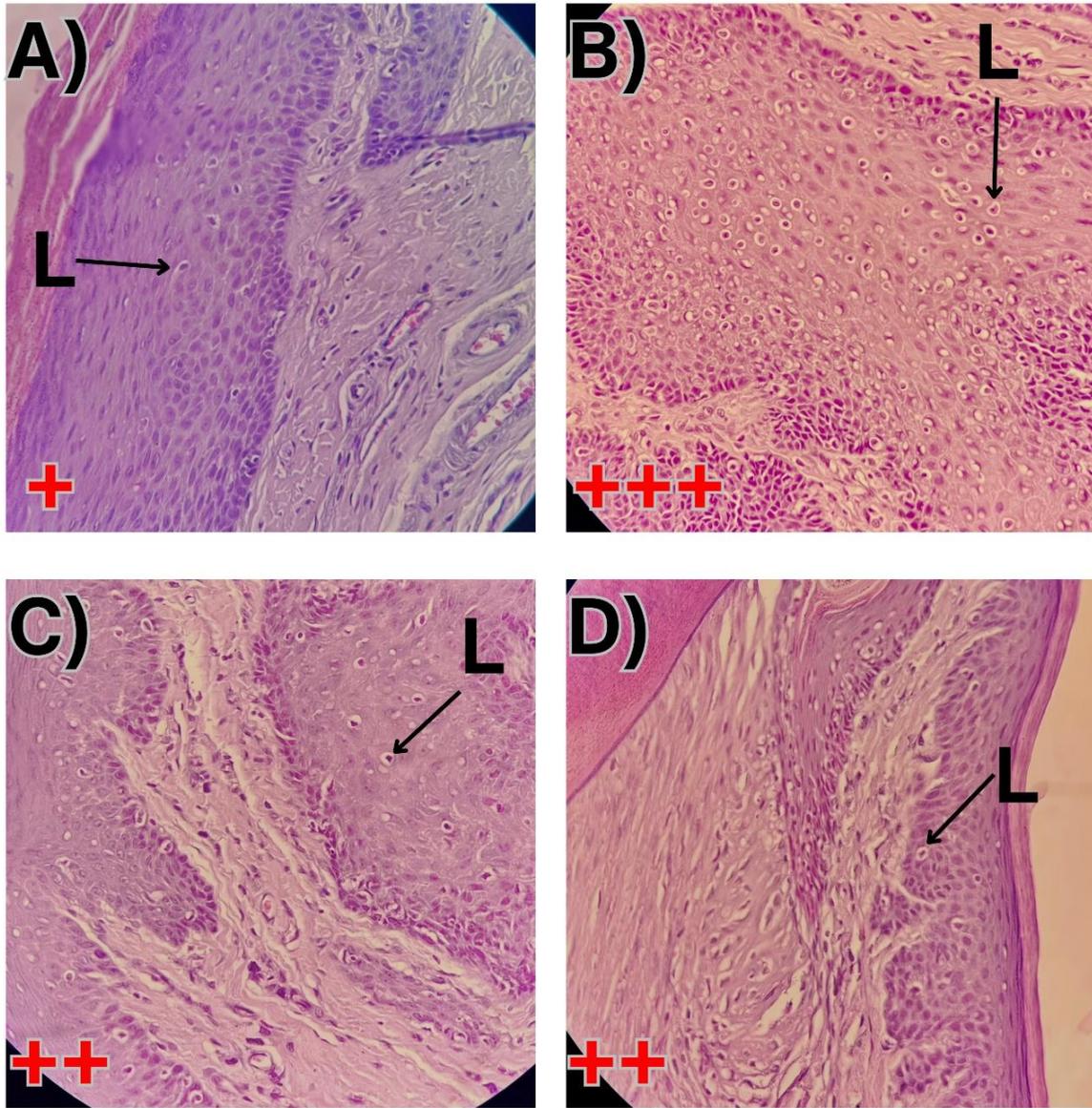
**Figura 12.** Cortes histológicos teñidos con H&E de las muestras de los diferentes grupos experimentales donde R es raíz, E es encía, AR es ápice radicular, H es hueso, SP es surco periodontal, BP es bolsa periodontal, EOG es epitelio oral gingival, EU es epitelio de unión, las flechas azules señalan el EU, las flechas amarillas señalan el EOG, las flechas negras señalan el SP. A) Grupo CN se observa una continuidad en la inserción del diente, así como un epitelio de unión organizado y un epitelio oral gingival continuo. B) Grupo PERIO se observa un desprendimiento del diente en la sección vestibular que se extiende hasta la zona apical de la raíz, formando una bolsa periodontal, el epitelio de unión se observa desorganizado y discontinuo. C) Grupo CHX se observa una continuidad en la inserción del diente y una disminución del tamaño del surco periodontal en la zona vestibular, el epitelio de unión se observa discontinuo, el epitelio oral gingival se observa organizado. D) Grupo ICA se observa una continuidad en la inserción del diente, así como un espacio del surco reducido en comparación con el grupo PERIO, el epitelio de unión se observa organizado y continuo, así como el epitelio oral gingival.

#### 7.4.2 Análisis inflamatorio-histológico de la ICA sobre el tejido periodontal

Para establecer la condición inflamatoria de cada grupo experimental, se examinaron los distintos cortes histológicos de cada grupo a una escala de 40x en el microscopio y se registró la cantidad de linfocitos que se detectaron en cada campo visual de cada muestra (3 campos visuales por laminilla) (Figura 16, tablas 14-16).

A cada campo visual se le otorgó un número de cruces dependiendo del número de linfocitos que se observó, donde a una cruz (+) se le otorgó un valor de menos de 10 linfocitos por campo visual, dos cruces (++) un valor de 11-30 linfocitos por campo visual, y 3 cruces (+++) un valor de más de 30 linfocitos por campo visual. Se observó una tendencia de una cruz (+) para el grupo CN, lo que sugiere que no se observa inflamación en este grupo. Para el grupo PERIO se observó una tendencia de 3 cruces (+++), sugiriendo que existe una inflamación dentro de este grupo. Para los grupos CHX e ICA se observó una tendencia de 2 cruces (++) , lo que sugiere que los tratamientos aplicados en estos grupos redujeron el grado de inflamación en comparación con el grupo PERIO.

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis para la comparación entre grupos y se observó una diferencia significativa entre los grupos CN y PERIO, sugiriendo que existe una mayor infiltración de linfocitos por campo visual en el grupo PERIO ( $p < 0.001$ ). Para el grupo CHX se observó una diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) vs el grupo PERIO. En el grupo ICA se observó una diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) vs el grupo PERIO y, al comparar los grupos ICA y CHX no se observó una diferencia significativa ( $p = 0.58$ ) lo que indica que ambos tratamientos disminuyeron la infiltración de linfocitos observada por campo visual de manera similar.



**Figura 13.** Cortes histológicos de las muestras de los diferentes grupos experimentales en una magnificación de 40x y se observan los linfocitos en los diferentes grupos experimentales, donde L es linfocito. A) Grupo CN se observan menos de 10 linfocitos por campo visual. B) Grupo PERIO se observan más de 30 linfocitos por campo visual. C) Grupo CHX se observan de 11-30 linfocitos por campo visual. D) Grupo ICA se observan de 11-30 linfocitos por campo visual.

**Tabla 10. Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes**

<b>N total</b>	72
<b>Estadístico de prueba</b>	59.197 <sup>a</sup>
<b>Grado de libertad</b>	3
<b>Sig. asintótica (prueba bilateral)</b>	<0.001

<sup>a</sup>. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

**Tabla 11. Comparaciones por parejas de tratamientos**

<b>Muestra 1- Muestra 2</b>	<b>Estadístico de prueba</b>	<b>Desv. Error</b>	<b>Desv. Estadístico de prueba</b>	<b>Sig.</b>	<b>Sig. ajustada<sup>a</sup></b>
CN-ICA	-25.333	6.969	-3.635	<0.001	0.002
CN-CHX	-29.194	6.969	-4.189	<0.001	0.000
CN-PERIO	-53.472	6.969	-7.673	<0.001	0.000
ICA-CHX	3.861	6.969	0.554	0.580	1.000
ICA-PERIO	28.139	6.969	4.038	<0.001	0.000
CHX-PERIO	24.278	6.969	3.484	<0.001	0.003

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son iguales.

Se visualizan las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es de 0.050.

<sup>a</sup>. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

## VIII. DISCUSIÓN

### 8.1 Efecto de la periodontitis inducida en ratas Wistar

En este estudio se utilizó un modelo in vivo para evaluar los efectos antiinflamatorios de la ICA en la periodontitis experimental inducida mediante la colocación de la ligadura de seda en el área periodontal interproximal de los incisivos inferiores. Durante varios años se han utilizado diversos modelos murinos de periodontitis, incluyendo la aplicación de ligadura ortodóntica tanto en molares como en incisivos, (73,74) ligadura de seda, (69) aplicación de ligadura más la inoculación de LPS, (75–77) debido a que en el modelo murino se induce la inflamación periodontal y la pérdida ósea que puede desarrollarse dentro de los primeros siete días. (77) En este estudio se demostró que los animales de los grupos con inducción de periodontitis experimental presentaron síntomas de inflamación a partir del día siete de la inducción, en comparación con el grupo control. El uso de la ligadura provoca un estado inflamatorio constante que conlleva la destrucción de los tejidos de soporte dental. La inducción de la periodontitis se comprobó mediante los signos clínicos de inflamación y la presencia de una bolsa periodontal, esto concuerda con los resultados de la inducción de periodontitis en molares establecida en 2013 por Abe et al. usando murinos (75) La técnica utilizada en este estudio estuvo basada en la técnica de Ionel et al. (69) colocando la sutura de seda 3-0 USP en la zona interproximal de los incisivos inferiores en ratas, y cuya técnica fue estandarizada previamente en el laboratorio. (70) En este trabajo demostramos que la inducción de periodontitis experimental por medio de ligadura de seda en ratas no afecta el crecimiento ni el desarrollo de los animales; asimismo, no tiene un efecto negativo en el consumo de alimento y agua de las ratas.

## 8.2 Efecto antiinflamatorio de la ICA en la periodontitis

La periodontitis es el resultado de una combinación de factores donde las células del sistema inmune, como los neutrófilos y macrófagos, secretan citocinas proinflamatorias (42,43) que conllevan a la aparición de signos y síntomas inflamatorios. En el presente estudio se evaluó el efecto de la ICA al 2% en la periodontitis experimental inducida, aplicando el compuesto dos veces al día durante 15 días, por vía tópica en las encías de las ratas. Clínicamente, se observó una disminución de la inflamación en el grupo tratado con ICA, la encía de los animales presentaba un color rosado y sin tumefacción. En contraste, el grupo PERIO presentó una coloración roja y la presencia de una tumefacción que se extendió desde la encía marginal hasta la unión mucogingival. Estos resultados demuestran que la ICA tiene un efecto antiinflamatorio en la periodontitis inducida, y estos están en concordancia con estudios previos, donde se demostró que la ICA (10  $\mu\text{m}$  vía oral cada dos días por seis semanas) disminuye la inflamación clínica en la periodontitis inducida en un modelo murino. (67) Además, la ICA (1.4 mM) en hidrogel con nanofibras de carbono resolvió parcialmente la condición inflamatoria en roedores. (65) Asimismo, en un modelo de minipigs se demostró que la inyección local de ICA en un rango de concentración de 0.01–1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en la periodontitis inducida reduce la profundidad de bolsa periodontal y la recesión gingival, igualmente, reduce la expresión de IL-1 $\beta$  y de IFN- $\gamma$  en líquido crevicular gingival. (64) Adicionalmente, se ha demostrado que la ICA (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) disminuye la secreción de citocinas proinflamatorias TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 contra LPS de *E. coli* en un modelo de disfunción de células calciformes intestinales. (78) En un modelo celular de osteoartritis, la ICA (1, 2.5, 5, 10, 20  $\mu\text{g}$ ) revirtió la expresión de IL-1 $\beta$  e IL-18 de manera dosis-dependiente. (79) La vía de señalización NF-kB juega un papel importante en la periodontitis al activar genes de citocinas proinflamatorias. (80) Un estudio in vitro en condrocitos en un modelo de defecto del cartílago articular murino demostró que la ICA (10<sup>-6</sup> mol/l) inhibe el incremento de NF-kB inducido por TNF- $\alpha$ . (81) Esto podría explicar la disminución de signos clínicos de inflamación después del tratamiento con ICA en este estudio.

Asimismo, el tratamiento con ICA tuvo resultados clínicos similares a los del tratamiento con CHX en la periodontitis inducida; esto sugiere que el efecto antiinflamatorio de la ICA es comparable con el efecto que tiene la CHX en la periodontitis inducida al reducir los síntomas de esta, la CHX es un conocido antiséptico efectivo contra bacterias, hongos y virus, que tiene un efecto bactericida en concentraciones mayores a 0.1%, además permanece en boca hasta por 12 horas previniendo la acumulación de placa, lo que la hace un gran producto para controlar el biofilm, (2,32,82) sin embargo, la CHX combate indiscriminadamente a las bacterias orales generando una disbiosis oral después de 7 días de uso, provocando un efecto contrario al deseado. (2) Un estudio evaluó la actividad antibacteriana de la ICA contra *P. gingivalis* en un modelo de células MC3T3-E1 y demostró que, a una concentración de 10  $\mu$ M, inhibe significativamente el crecimiento bacteriano en osteoblastos. (67)

Interesantemente, se han demostrado los efectos pro-osteogénicos y anti-osteoclasticos de la ICA. Un estudio demostró que la ICA (10  $\mu$ M) mejora la diferenciación osteogénica de células madre de la médula ósea al activar la autofagia en un modelo murino posterior a la ovariectomía. (83) Otro estudio demostró que la ICA (50 mg/kg/día) vía intraperitoneal en combinación con dieta cetogénica mitigó la pérdida ósea y revirtió la degradación de microestructuras óseas en un modelo murino de osteoporosis. (84) En el presente estudio, se comparó la altura de la cresta alveolar ósea de los animales de los grupos experimentales post mortem, observando la altura de la cresta ósea en el grupo ICA significativamente mayor en comparación con el grupo de periodontitis ( $p < 0.02$ ), sugiriendo que la ICA promovió la osteogénesis en nuestro modelo de periodontitis inducida. El hallazgo es similar a los obtenidos en diversos estudios donde se evalúa el efecto de la ICA en la regeneración ósea durante la periodontitis. Como antecedente, el tratamiento intraóseo con ICA en hidrogel con nanofibras de carbono (1.4 mM) promueve la diferenciación osteogénica de células madre derivadas de la médula ósea, acompañado de un aumento de la altura del hueso alveolar histológico en la periodontitis inducida en un modelo murino. (65) Asimismo, en un estudio in vitro, utilizando ICA, 50  $\mu$ M aumenta la habilidad de diferenciación

osteogénica en fibroblastos de ligamento periodontal, aumentando los niveles de la proteína morfogenética ósea 2 y de la enzima fosfatasa alcalina (ALP) de manera dosis-dependiente. (66) También se ha demostrado a nivel histológico que la distancia entre la unión amelocementaria y el nivel de cresta alveolar fue menor en el grupo de periodontitis inducida luego del tratamiento oral con ICA (10  $\mu$ M cada dos días por seis semanas). (67)

Asimismo, en este estudio se evaluó histológicamente el tejido periodontal de todos los grupos experimentales. Al final del tratamiento, el tejido periodontal en el grupo de ICA y el grupo control se caracterizó por la continuidad de la inserción del diente, así como una adhesión de la encía al cemento, además de un surco periodontal sano en comparación con el grupo de PERIO, estos animales mostraron la presencia de la bolsa periodontal que se extiende hasta el ápice radicular. Estos resultados están acordes con estudios previos en la periodontitis inducida en mamíferos, por ejemplo, se demostró histológicamente que el uso de ICA (0.01–1  $\mu$ g/mL) en inyección local supraperióstica promueve la regeneración tisular del periodonto. (64) También el uso de ICA con nanofibras de carbón (1.4 mM) activado con luz infrarroja demostró histológicamente una reparación del tejido periodontal dañado, así como una mejora de la inflamación del tejido periodontal. (65) Finalmente, en el presente estudio, se observó que los animales del grupo CHX no tuvieron diferencias significativas en el nivel de cresta ósea en comparación con el grupo PERIO, sugiriendo que CHX no protege de la pérdida ósea en la periodontitis.

### 8.3 Efecto antioxidante de la ICA en la periodontitis

La periodontitis se caracteriza además por la activación de los leucocitos polimorfonucleares, que a su vez pueden generar la activación constante de biomarcadores que intervienen en la retroalimentación negativa del metabolismo óseo como son las EROs durante los procesos inflamatorios. (85) Los neutrófilos son la principal fuente de EROs y las células inflamatorias más prevalentes que se acumulan en el tejido periodontal y el surco gingival después de que las bacterias periodontopatógenas en el biofilm desencadenan las respuestas de defensa del

huésped. (44,86) Durante la fagocitosis, los neutrófilos, a través de la vía de la NADPH oxidasa, pueden liberar un exceso de EROs que son altamente reactivas y tienen una vida media muy corta. (46) Por lo tanto, el desarrollo de la periodontitis está estrechamente relacionado con los cambios en las concentraciones locales de biomarcadores de EOx. Wang et al. en (2017), propusieron al EOx como un biomarcador que podría utilizarse para diagnosticar la periodontitis y evaluar la eficacia del tratamiento; indicando que la respuesta inflamatoria periodontal se asocia con un aumento de EOx local y sistémico y una capacidad antioxidante comprometida. (44) El MDA es un biomarcador de peroxidación lipídica bien establecido en la periodontitis evaluada a nivel tisular en animales de experimentación (87–89) y en población; el incremento de sus niveles en la saliva indica la progresión de la enfermedad. (90) En este estudio se evaluó la cantidad de MDA en el tejido periodontal posterior al tratamiento con ICA, observándose una disminución significativa de MDA en comparación con el grupo de PERIO. En contexto, se ha demostrado que los pacientes con periodontitis presentan niveles elevados de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), MDA y daño oxidativo del ADN en el tejido periodontal y líquido gingival. (91,92) Además, se ha observado que en muestras de saliva y del Biofilm, diferentes biomarcadores de EOx, como la capacidad antioxidante total, MDA, GPx, óxido nítrico (NO), estado oxidativo total y 8-hidroxidesoxiguanosina, fueron significativamente diferentes entre pacientes con periodontitis y controles sanos. (45)

En este contexto, se sabe que la ICA posee propiedades antioxidantes en concentraciones de 50 mg/kg vía intraperitoneal al disminuir la concentración de MDA y EROs y al aumentar las expresiones de las enzimas SOD1, CAT y GPx1 en un modelo de endometritis inducida. (61) Además, se ha descrito que la ICA (20  $\mu$ g/mL) incrementa la actividad enzimática de SOD, GPx y CAT modulando el estrés oxidativo contra LPS de *E. coli* en un modelo de células LS174T calciformes colónicas humanas. (78) Asimismo, el efecto de la ICA (50 mg/kg) previo a la inducción con carragenina incrementa significativamente los niveles de GSH, y de las enzimas SOD, CAT, GPx, GR y hemoxigenasa (HO-1), vía expresión del factor nuclear relacionado a eritroide 2 (Nrf2) que tiene funciones citoprotectoras,

antiinflamatorias y antioxidantes. (63) En el mismo sentido, otro estudio demostró que la ICA (30 mg/kg) revierte significativamente la inhibición de Nrf2 y HO-1 en un modelo de falla ovárica prematura inducida por cisplatino en ratones al acelerar el sistema NRF2/ARE, que participa en la homeostasis redox, en la citoprotección y en la respuesta adaptativa al regular el EOX. (93)

Otro marcador de daño oxidativo que se evaluó fue la carbonilación de proteínas, que se refiere a una modificación irreversible que resulta del daño oxidativo y conlleva la pérdida de la función proteica. (94) La especificidad de los aminoácidos para someterse a la carbonilación la convierte en un biomarcador efectivo para evaluar el daño oxidativo a las proteínas. (95) En la periodontitis, la carbonilación de proteínas ha sido poco estudiada y los pocos trabajos que se han realizado reportan niveles altos de carbonilos en el líquido crevicular y saliva de pacientes con periodontitis. (96–98) Se ha observado un aumento significativo en los niveles de carbonilos en suero y líquido crevicular en pacientes con periodontitis en comparación con pacientes con gingivitis y con salud periodontal, (99) así como un aumento de carbonilos en el líquido crevicular de pacientes con periodontitis cuando se combina la enfermedad con DMT2. (100) En este estudio se evaluó la concentración de carbonilos en la periodontitis inducida, observando una disminución significativa de estos posterior al tratamiento con ICA. Este es el primer estudio en el que se evalúan carbonilos en tejido periodontal en la periodontitis inducida, ya que estudios previos han evaluado la carbonilación de proteínas en saliva y líquido crevicular de pacientes con periodontitis y han reportado su papel en esta enfermedad. (96–98) También se comparó el efecto de la ICA sobre el nivel de carbonilos en el tejido periodontal contra el tratamiento con CHX, donde se observó una diferencia significativa entre ambos compuestos, siendo la CHX la que demostró un mejor efecto al disminuir la carbonilación de proteínas, sin embargo, debemos tomar en cuenta que el gel de CHX utilizado en este estudio está adicionado con ingredientes como el dexpanthenol, que es un derivado de la vitamina B5 con propiedades como la proliferación de fibroblastos, la reepitelización y restauración de la barrera del epitelio. (101)

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria que se deriva de un biofilm disbiótico compuesto por bacterias anaerobias, principalmente *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola*. (37) La cavidad oral basal de las ratas suele estar conformada por *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Corynebacterium* y *Clostridium*. (102,103) En este estudio se indujo la periodontitis a ratas Wistar por medio de ligadura de seda; no obstante, no se inoculó ningún LPS, lo que pudo haber limitado el desarrollo de síntomas clínicos inflamatorios y la posibilidad de la evaluación de la ICA como antimicrobiano. Como se mencionó anteriormente, el tratamiento se aplicó durante 15 días; en este tiempo no se observó ninguna reacción adversa en el tejido periodontal, sin embargo, se sugiere prolongar la duración del tratamiento para evaluar su exposición crónica, resaltando que la CHX ha sido reportada como citotóxica en su uso prolongado en la periodontitis. (32)

## **IX. CONCLUSIONES**

Este estudio experimental demostró que el tratamiento tópico de ICA al 2% en la periodontitis inducida provocó una disminución de los síntomas inflamatorios clínicos, así como una disminución del daño oxidativo en el tejido periodontal en un modelo de rata. Además, sus efectos antiinflamatorios y antioxidantes fueron comparables a los efectos del tratamiento con CHX de la marca Bexident® que está adicionada con dexpantenol, demostrando que el tratamiento con ICA puede sugerirse como tratamiento para el desarrollo de un producto comercial utilizado en la periodontitis.

El presente estudio sugiere a ICA como un coadyuvante efectivo en el tratamiento para la periodontitis. Este estudio busca ampliar la propuesta de tratamientos adyuvantes de origen natural para la periodontitis, así como demostrar los efectos antiinflamatorios de la ICA, funcionando como base para futuros estudios clínicos sobre la ICA en la periodontitis.

## **X. RECOMENDACIONES**

Para la continuación de este proyecto se recomienda:

- Aumentar el tiempo de tratamiento para evaluar los posibles efectos adversos de la ICA en la periodontitis inducida.
- Realizar algunas pruebas inmunohistoquímicas que evalúen citocinas proinflamatorias.
- Realizar la inoculación de LPS para determinar si la ICA tiene propiedades antimicrobianas en este modelo.

## XI. REFERENCIAS

1. World Health Organization. Oral Health [Internet]. Geneva; 2018 [citado 2025 enero 29] Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
2. Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J. Dent.* 2020;103:103497.
3. Bi Z, Zhang W, Yan X. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of icariin and icaritin. *Biomed. Pharmacother.* 2022;151:113180.
4. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J. Clin. Periodontol.* 2018;45:S9–16.
5. Newman MG, Klokkevold PR, Elangovan S, Kapila Y. Newman and Carranza's Clinical Periodontology and Implantology. 14<sup>th</sup> ed. St. Louis: Elsevier; 2023.
6. Vargas-Casillas AP, Yáñez-Ocampo BR, Monteagudo-Arrieta CA. Periodontología e Implantología. 1st ed. México, D.F.; Editorial Panamericana; 2016.
7. Lang NP, Lindhe J. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 6th ed. Vol. 1. Buenos Aires. Editorial Panamericana; 2017.
8. Seibert JL, Lindhe J. Aesthetics and periodontal therapy. 2nd Ed. Copenhagen, Denmark: Munksgaard: Textbook of Clinical Periodontology; 1989.
9. Cortellini P, Bissada NF. Mucogingival conditions in the natural dentition: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. *J. Periodontol.* 2018;89 Suppl 1:S204–13.
10. Zweers J, Thomas RZ, Slot DE, Weisgold AS, Van Der Weijden FGA. Characteristics of periodontal biotype, its dimensions, associations and prevalence: a systematic review. *J. Clin. Periodontol.* 2014;41(10):958–71.
11. Di Stefano M, Polizzi A, Santonocito S, Romano A, Lombardi T, Isola G. Impact of Oral Microbiome in Periodontal Health and Periodontitis: A Critical Review on Prevention and Treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(9):5142.

12. Diao J, Yuan C, Tong P, Ma Z, Sun X, Zheng S. Potential Roles of the Free Salivary Microbiome Dysbiosis in Periodontal Diseases. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2021;11:711282.
13. Uchida H, Ovitt CE. Novel impacts of saliva with regard to oral health. *J. Prosthet. Dent.* 2021;127(3):383.
14. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J. Clin. Periodontol.* 2018;45:S17–27.
15. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol.* 2000. 2021;87(1):107-131.
16. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J. Clin. Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S162–70.
17. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *Sci. World J.* 2020;2020:2146160.
18. Trindade D, Carvalho R, Machado V, Chambrone L, Mendes JJ, Botelho J. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *J. Clin. Periodontol.* 2023;50(5):604–26.
19. Sistema Único de Información, Secretaría de Salud. Gingivitis y Enfermedades Periodontales. *Boletín de Vigilancia Epidemiología.* 2010;27(9):1–3.
20. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Dirección General de Epidemiología. Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales SIVEPAB 2021 [Internet]. México; [citado 2023 Sep 4]. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/documentos/informes-sivepab-2021>
21. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J. Periodontol.* 2018;89(S1):S1–8.

22. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J. Clin. Periodontol.* 2018;45:S149–61.
23. Flores-Rodrigo D, Meza-Mauricio J, Retamal-Valdes B, Mayta-Tovalino F, Mendoza-Azpur G. Level of patient comfort and measurement reproducibility of three different probes: A cross-sectional study. *Int. J. Dent. Hyg.* 2022;20(2):301–7.
24. Mostafapoor M, Hemmatian S. Evaluation of the accuracy values of cone-beam CT regarding apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Oral Radiol.* 2022;38(3):309–14.
25. Sanz M, David Herrera, Moritz Kebschull, Chapple I, Jepsen S, Berglundh T, et al. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47:4–60.
26. Carra MC, Detzen L, Kitzmann J, Woelber JP, Ramseier CA, Bouchard P. Promoting behavioural changes to improve oral hygiene in patients with periodontal diseases: A systematic review. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(S22):72–89.
27. Slot DE, Valkenburg C, Van der Weijden GA. Mechanical plaque removal of periodontal maintenance patients: A systematic review and network meta-analysis. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(S22):107–24.
28. Suvan J, Leira Y, Moreno Sancho FM, Graziani F, Derks J, Tomasi C. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(S22):155–75.
29. Johnston W, Paterson M, Piela K, Davison E, Simpson A, Goulding M, et al. The systemic inflammatory response following hand instrumentation versus ultrasonic instrumentation—A randomized controlled trial. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(9):1087–97.
30. Ramseier CA, Woelber JP, Kitzmann J, Detzen L, Carra MC, Bouchard P. Impact of risk factor control interventions for smoking cessation and promotion of healthy lifestyles in patients with periodontitis: A systematic review. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(S22):90–106.

31. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Concise Clinical Review Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int. Dent. J.* 2021;71:462–76.
32. Deus FP, Ouanounou A. Concise Clinical Review Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *Int. Dent. J.* 2022;72:269–77.
33. El Mobadder M, Nammour S, Grzech-Le Z, Grzech-Le K. Clinical Medicine Efficacy of the Adjunct Use of Povidone-Iodine or Sodium Hypochlorite with Non-Surgical Management of Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Clin. Med.* 2022;11(21):6593.
34. Teughels W, Feres M, Oud V, Martín C, Matesanz P, Herrera D. Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(S22):257–81.
35. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J. Clin. Periodontol.* 1998;25(2):134–44.
36. Abdulkareem AA, Al-Taweel FB, Al-Sharqi AJB, Gul SS, Sha A, Chapple ILC. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis. *J. Oral Microbiol.* 2023;15(1):2197779.
37. Mohanty R, Asopa SJ, Joseph MD, Singh B, Rajguru JP, Saidath K, et al. Red complex: Polymicrobial conglomerate in oral flora: A review. *J. Family Med. Prim. Care.* 2019;8(11):3480.
38. Enteghad S, Shirban F, Nikbakht MH, Bagherniya M, Sahebkar A. Relationship Between Diabetes Mellitus and Periodontal/Peri-Implant Disease: A Contemporaneous Review. *Int. Dent. J.* 2024;74(3):426–45.
39. Han N, Liu Y, Du J, Xu J, Guo L, Liu Y. Regulation of the Host Immune Microenvironment in Periodontitis and Periodontal Bone Remodeling. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(4):3158.
40. Loos BG, Van Dyke TE. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. *Periodontol.* 2000. 2020 Jun 1;83(1):26–39.
41. Xu XW, Liu X, Shi C, Sun HC. Roles of Immune Cells and Mechanisms of Immune Responses in Periodontitis. *Chin. J. Dent. Res.* 2021;24(4):219–30.
42. Neurath N, Kesting M. Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Front. Immunol.* 2024;15:1435054.

43. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *Int. J. Oral Sci.* 2019;11(3):30.
44. Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Front. Physiol.* 2017;8:910.
45. Almerich-Silla JM, Montiel-Company JM, Pastor S, Serrano F, Puig-Silla M, Dasí F. Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Dis Markers.* 2015;2015:653537.
46. Sui L, Wang J, Xiao Z, Yang Y, Yang Z, Ai K. ROS-Scavenging Nanomaterials to Treat Periodontitis. *Front. Chem.* 2020;8:595530.
47. Seyedi Z, Amiri MS, Mohammadzadeh V, Hashemzadeh A, Haddad-Mashadrizeh A, Mashreghi M, et al. Icariin: A Promising Natural Product in Biomedicine and Tissue Engineering. *J. Funct. Biomater.* 2023;14(1):44.
48. He C, Wang Z, Shi J. Pharmacological effects of icariin. *Adv. Pharmacol.* 2020;87:179–203.
49. Wang P, Meng Q, Wang W, Zhang S, Xiong X, Qin S, et al. Icariin inhibits the inflammation through down-regulating NF- $\kappa$ B/HIF-2 $\alpha$  signal pathways in chondrocytes. *Biosci. Rep.* 2020;40(11):BSR20203107.
50. Li Y, Liu J, Pongkorsakol P, Xiong Z, Li L, Jiang X, et al. Relief Effects of Icariin on Inflammation-Induced Decrease of Tight Junctions in Intestinal Epithelial Cells. *Front. Pharmacol.* 2022;13:903762.
51. Sharma S, Iqbal A, Khan V, Sharma K, Najmi AK, Haque SE. Icariin ameliorates oxidative stress-induced inflammation, apoptosis, and heart failure in isoproterenol-challenged Wistar rats. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2023;26(5):517.
52. Chuang Y, Van I, Zhao Y, Xu Y. Icariin ameliorate Alzheimer's disease by influencing SIRT1 and inhibiting A $\beta$  cascade pathogenesis. *J. Chem. Neuroanat.* 2021;117:102014.
53. Dai M, Chen B, Wang X, Gao C, Yu H. Icariin enhance mild hypothermia-induced neuroprotection via inhibiting the activation of NF- $\kappa$ B in experimental ischemic stroke. *Metab. Brain Dis.* 2021;36(7):1779–90.

54. Zhu F, Ren Z. Icariin inhibits the malignant progression of lung cancer by affecting the PI3K/Akt pathway through the miR 205 5p/PTEN axis. *Oncol. Rep.* 2022;47(6):115.
55. Song L, Chen X, Mi L, Liu C, Zhu S, Yang T, et al. Icariin-induced inhibition of SIRT6/NF- $\kappa$ B triggers redox mediated apoptosis and enhances anti-tumor immunity in triple-negative breast cancer. *Cancer Sci.* 2020;111(11):4242–56.
56. Tao H, Liu M, Wang Y, Luo S, Xu Y, Ye B, et al. Icaritin Induces Anti-tumor Immune Responses in Hepatocellular Carcinoma by Inhibiting Splenic Myeloid-Derived Suppressor Cell Generation. *Front. Immunol.* 2021;12:609295.
57. Mohammadzadeh M, Zarei M, Abbasi H, Webster TJ, Beheshtizadeh N. Promoting osteogenesis and bone regeneration employing icariin-loaded nanoplatforms. *J. Biol. Eng.* 2024;18(1):29.
58. Teleanu DM, Niculescu AG, Lungu II, Radu CI, Vladâcenco O, Roza E, et al. An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(11):5938.
59. Liu W, Feng Y, Yu S, Fan Z, Li X, Li J, et al. The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):12824.
60. Ramesh P, Jagadeesan R, Sekaran S, Dhanasekaran A, Vimalraj S. Flavonoids: Classification, Function, and Molecular Mechanisms Involved in Bone Remodelling. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2021;12:779638.
61. Shaukat A, Shaukat I, Rajput SA, Shukat R, Hanif S, Huang S, et al. Icariin Alleviates Escherichia coli Lipopolysaccharide-Mediated Endometritis in Mice by Inhibiting Inflammation and Oxidative Stress. *Int J Mol Sci.* 2022;23(18):10219.
62. Yoon JW, Lee SE, Park YG, Kim WJ, Park HJ, Park CO, et al. The antioxidant icariin protects porcine oocytes from age-related damage in vitro. *Anim. Biosci.* 2020;34(4):546.
63. El-Shitany NA, Eid BG. Icariin modulates carrageenan-induced acute inflammation through HO-1/Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Biomed Pharmacother.* 2019;120:109567.

64. Zhang X, Han N, Li G, Yang H, Cao Y, Fan Z, et al. Local icariin application enhanced periodontal tissue regeneration and relieved local inflammation in a minipig model of periodontitis. *Int. J. Oral Sci.* 2018;10(2):1–6.
65. Zheng X, Dong Z, Liang Z, Liu Y, Yin X, Han M, et al. Photothermally responsive icariin and carbon nanofiber modified hydrogels for the treatment of periodontitis. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2023;11:1207011.
66. Hai-Jiang L, Xue-Yang L, De-Bao J. Icariin induces the growth, migration and osteoblastic differentiation of human periodontal ligament fibroblasts by inhibiting Toll-like receptor 4 and NF- $\kappa$ B p65 phosphorylation. *Mol. Med. Rep.* 2018;18(3):3325–31.
67. Wang W, Sun DF, Dong Z, Zhang WL. Icariin suppresses osteogenic differentiation and promotes bone regeneration in *Porphyromonas gingivalis*-infected conditions through EphA2-RhoA signaling pathway. *Int. Immunopharmacol.* 2024;143(Pt 1):113302.
68. Rojo Amigo A. Cálculo del tamaño muestral en procedimientos de experimentación con animales. *Animales de Laboratorio.* 2014;(62):31–3.
69. Ionel A, Lucaciu O, Tăbăran F, Berce C, Toader S, Hurubeanu L, et al. Histopathological and clinical expression of periodontal disease related to the systemic inflammatory response. *Histol. Histopathol.* 2017;32(4):379-384.
70. Izquierdo Vega AJ. Efecto antiinflamatorio del ácido hibiscus en la periodontitis inducida en un modelo de ratas Wistar. [Tesis de Maestría]. San Agustín Tlaxiaca: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2021
71. Aguilar Diaz De Leon J, Borges CR. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. *J. Vis. Exp.* 2020;(159):10.3791/61122.
72. Rodríguez-García A, García-Vicente R, Morales ML, Ortiz-Ruiz A, Martínez-López J, Linares M. Protein Carbonylation and Lipid Peroxidation in Hematological Malignancies. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(12):1–30.
73. Li D, Feng Y, Tang H, Huang L, Tong Z, Hu C, et al. A Simplified and Effective Method for Generation of Experimental Murine Periodontitis Model. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020;8:444.

74. Okamoto A, Ohnishi T, Bandow K, Kakimoto K, Chiba N, Maeda A, et al. Reduction of orthodontic tooth movement by experimentally induced periodontal inflammation in mice. *Eur. J. Oral Sci.* 2009;117(3):238-47.
75. Abe T, Hajishengallis G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J. Immunol. Methods.* 2013;394(1-2):49-54.
76. Marchesan J, Girnary MS, Jing L, Miao MZ, Zhang S, Sun L, et al. An experimental murine model to study periodontitis. *Nat. Protoc.* 2018;13(10):2247-2267.
77. Lin P, Niimi H, Ohsugi Y, Tsuchiya Y, Shimohira T, Komatsu K, et al. Application of Ligature-Induced Periodontitis in Mice to Explore the Molecular Mechanism of Periodontal Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(16):8900.
78. Xiong W, Ma H, Zhang Z, Jin M, Wang J, Xu Y, et al. The protective effect of icariin and phosphorylated icariin against LPS-induced intestinal goblet cell dysfunction. *Innate Immun.* 2020;26(2):97-106.
79. Zu Y, Mu Y, Li Q, Zhang ST, Yan HJ. Icariin alleviates osteoarthritis by inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis. *J. Orthop. Surg. Res.* 2019;14(1):307.
80. Chen Z, Lang G, Xu X, Liang X, Han Y, Han Y. The role of NF-kappaB in the inflammatory processes related to dental caries, pulpitis, apical periodontitis, and periodontitis-a narrative review. *PeerJ.* 2024;12:e17953.
81. Wang P, Meng Q, Wang W, Zhang S, Xiong X, Qin S, et al. Icariin inhibits the inflammation through down-regulating NF-kB/HIF-2 $\alpha$  signal pathways in chondrocytes. *Biosci. Rep.* 2020;40(11):BSR20203107.
82. Karamani I, Kalimeri E, Seremidi K, Gkourtsogianni S, Kloukos D. Chlorhexidine Mouthwash for Gingivitis Control in Orthodontic Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oral Health Prev. Dent.* 2022;20:279-294.
83. Liang X, Hou Z, Xie Y, Yan F, Li S, Zhu X, et al. Icariin promotes osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells and prevents bone loss in OVX mice via activating autophagy. *J. Cell Biochem.* 2019;120(8):13121-13132.
84. Liu W, Xiang S, Wu Y, Zhang D, Xie C, Hu H, et al. Icariin promotes bone marrow mesenchymal stem cells osteogenic differentiation via the mTOR/autophagy

- pathway to improve ketogenic diet-associated osteoporosis. *J. Orthop. Surg. Res.* 2024;19(1):127.
85. Hatipoğlu M, Sağlam M, Köseoğlu S, Köksal E, Keleş A, Esen HH. The Effectiveness of *Crataegus orientalis* M Bieber. (Hawthorn) Extract Administration in Preventing Alveolar Bone Loss in Rats with Experimental Periodontitis. *PLoS One.* 2015;10(6):e0128134.
86. Chu X, Sun Z, Baek DS, Li W, Mellors JW, Shapiro SD, et al. Human Antibody Domains and Fragments Targeting Neutrophil Elastase as Candidate Therapeutics for Cancer and Inflammation-Related Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(20):11136.
87. Wang Y, Lin H, Huang W, Liu Z, Chen Z, Zhao X, et al. Curcumin Attenuates Periodontal Injury via Inhibiting Ferroptosis of Ligature-Induced Periodontitis in Mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(12):9835.
88. Li Q, Zhao Y, Deng D, Yang J, Chen Y, Liu J, et al. Aggravating Effects of Psychological Stress on Ligature-Induced Periodontitis via the Involvement of Local Oxidative Damage and NF-κB Activation. *Mediators Inflamm.* 2022;2022:6447056.
89. Fan Q, Zhou XH, Wang TF, Zeng FJ, Liu X, Gu Y, et al. Effects of epigallocatechin-3-gallate on oxidative stress, inflammation, and bone loss in a rat periodontitis model. *J. Dent. Sci.* 2023;18(4):1567-1575.
90. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Singh B, Pandey S. Association of salivary lipid peroxidation levels, antioxidant enzymes, and chronic periodontitis. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2015;35(2):e14-9.
91. Mohideen K, Chandrasekar K, Ramsridhar S, Rajkumar C, Ghosh S, Dhungel S. Assessment of Oxidative Stress by the Estimation of Lipid Peroxidation Marker Malondialdehyde (MDA) in Patients with Chronic Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Dent.* 2023;2023:6014706.
92. Shang J, Liu H, Zheng Y, Zhang Z. Role of oxidative stress in the relationship between periodontitis and systemic diseases. *Front. Physiol.* 2023;14:1210449.

93. Li F, Zhu F, Wang S, Hu H, Zhang D, He Z, et al. Icaritin alleviates cisplatin-induced premature ovarian failure by inhibiting ferroptosis through activation of the Nrf2/ARE pathway. *Sci. Rep.* 2024;14(1):17318.
94. Patil RT, Dhadse PV, Salian SS, Punse SD. Role of Oxidative Stress in Periodontal Diseases. *Cureus.* 2024;16(5):e60779.
95. Matsuo K, Hosoda K, Tanaka J, Yamamoto Y, Imahori T, Nakai T, et al. Geranylgeranylacetone attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats through the augmentation of HSP 27 phosphorylation: a preliminary study. *BMC Neurosci.* 2021;22(1):9.
96. Baltacıoğlu E, Akalin FA, Alver A, Değer O, Karabulut E. Protein carbonyl levels in serum and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *Arch. Oral Biol.* 2008;53(8):716–22.
97. Lutfioğlu M, Aydoğdu A, Atabay VE, Sakallıoğlu EE, Avci B. Gingival crevicular fluid oxidative stress level in patients with periodontal disease and hyperlipidemia. *Braz. Oral Res.* 2017;31:1–10.
98. Nguyen TT, Ngo LQ, Promsudthi A, Surarit R. Salivary oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis and acute coronary syndrome. *Clin. Oral Investig.* 2017;21(7):2345–53.
99. Pradeep AR, Ramchandraprasad MV, Bajaj P, Rao NS, Agarwal E. Protein carbonyl: An oxidative stress marker in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis, and chronic periodontitis subjects. *Contemp. Clin. Dent.* 2013;4(1):27-31.
100. Rocha NML, Fajardo AME, Orrantia BMA, Ramírez EJ, Salinas Pedroza GE. Niveles de proteína carbonilada y capacidad antioxidante total en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico y enfermedad periodontal. *Rev. ADM.* 2019;76(4):208-213.
101. Cho YS, Kim HO, Woo SM, Lee DH. Use of Dexpanthenol for Atopic Dermatitis-Benefits and Recommendations Based on Current Evidence. *J. Clin. Med.* 2022;11(14):3943.

102. Huang Z, Cheng Y. Oral microbiota transplantation for intra-oral halitosis: a feasibility analysis based on an oral microbiota colonization trial in Wistar rats. *BMC Microbiol.* 2024;24(1):170.
103. Paudel D, Kuramitsu Y, Uehara O, Morikawa T, Yoshida K, Giri S, et al. Proteomic and microbioma analyses of the oral cavity during psychological stress. *PLoS One.* 2022;17(5):e0268155.

## XII. ANEXOS

### Anexo I. Dictamen de evaluación CICUAL



Dirección  
de Servicios  
Académicos

Dirección  
de Bioterio



COMITÉ INSTITUCIONAL PARA EL CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE LABORATORIO

### DICTÁMEN DE EVALUACIÓN

<b>INSTITUTO:</b> Instituto de Ciencias de la Salud Área Académica de Medicina		<b>FOLIO:</b> CICUAL-V-I/07/2024	
		<b>FECHA DE SOLICITUD:</b> 22/01/24	
<b>PROYECTO:</b> Efecto antiinflamatorio del icariin sobre la periodontitis inducida en un modelo de ratas Wistar.		<b>RESPONSABLE DEL PROYECTO:</b> Manuel Sánchez Gutiérrez E mail: <a href="mailto:Manuel_sanchez@uaeh.edu.mx">Manuel_sanchez@uaeh.edu.mx</a> Teléfono: 7712406924	
<b>INVESTIGADORES QUE PARTICIPAN EN EL PROYECTO:</b> Manuel Sánchez Gutiérrez, Alelí Julieta Izquierdo Vega, Jeannett Alejandra Izquierdo Vega, Eduardo Osiris Madrigal Santillán.			
<b>ALUMNOS QUE PARTICIPARÁN:</b> Daniela Mendoza Juárez.			
ASPECTOS A EVALUAR	ACEPTABLE	NO ACEPTABLE	SUGERENCIAS
JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ANIMALES DE LABORATORIO	X		
BIENESTAR Y ESTRÉS ANIMAL	X		
PROCEDIMIENTOS Y CUIDADOS APLICADOS EN EL ANIMAL	X		
ASPECTOS ÉTICOS DEL PROTOCOLO	X		
PUNTO FINAL Y EUTANASIA	X		
OBSERVACIONES GENERALES			
FECHA DE REVISIÓN	NEGADO		FECHA DE APROBACIÓN
13/02/2024	APROBADO	x	14/03/2024
Fecha de inicio: 30 de abril de 2024    Fecha de término: 30 de abril de 2025			
<b>CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES QUE SE PROPORCIONARÁN:</b> 66/ Rata / Wistar / Machos / 6-8 semanas / 150 – 200 gr			

<b>INVESTIGADOR PRINCIPAL</b> 	<b>PRESIDENTE CICUAL</b>  Carlos Alberto Gómez Aldapa	<b>DIRECTOR BIOTERIO</b>  Héctor Hernández Domínguez
--	--	--

Anexo 2.

**Tabla 12. Medición de la cresta alveolar en mm**

<b>CN</b>	<b>PERIO</b>	<b>CHX</b>	<b>ICA</b>
0	4	4	4
0	4	4	4
0	5	5	4
0	4	4	4
0	4	3	3
0	5	4	4
0	4	4	3
0	5	5	4
0	5	4	4

Anexo 3.

**Tabla 13. Descriptivas de Grupo. Nivel de Cresta Alveolar**

	<b>GRUPOS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>EE</b>
Cresta Alveolar	CN	9	0.000	0.000	0.000
	PERIO	9	4.440	0.527	0.176
	CHX	9	4.112	0.601	0.200
	ICA	9	3.783	0.441	0.147

Anexo 4.

**Tabla 14. Descriptivas de grupo para la medición de MDA (mM/mg tejido) en los grupos experimentales**

	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Error estándar</b>
CN	4	1.534	0.044	0.022
PERIO	4	2.106	0.151	0.075
CHX	4	1.346	0.092	0.046
ICA	4	1.368	0.073	0.036
Total	16	1.588	0.329	0.082

Anexo 5.

**Tabla 15. Descriptivas de grupo para la medición de carbonilos en nmol/mg de proteína en tejido gingival en los grupos experimentales**

	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Error estándar</b>
CN	4	3467.659	103.092	51.546
PERIO	4	4101.194	90.721	45.360
CHX	4	2376.649	86.185	43.092
ICA	4	3103.394	36.288	18.144
Total	16	3262.224	648.330	162.082

Anexo 6.

**Tabla 16. Conteo de linfocitos por campo visual**

<b>Muestra</b>	<b>Campo visual</b>	<b>CN</b>	<b>PERIO</b>	<b>CHX</b>	<b>ICA</b>
<b>1</b>	C1	2	30	6	7
	C2	3	27	10	8
	C3	0	29	15	4
<b>2</b>	C1	2	35	5	6
	C2	0	18	11	7
	C3	2	38	7	10
<b>3</b>	C1	2	42	13	12
	C2	0	28	17	6
	C3	1	19	14	15
<b>4</b>	C1	1	40	8	13
	C2	1	45	12	14
	C3	3	34	11	12
<b>5</b>	C1	0	23	15	5
	C2	1	37	18	4
	C3	0	18	30	10
<b>6</b>	C1	2	28	4	11
	C2	1	33	7	13
	C3	2	35	6	14