



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

**TESIS**

**EFFECTOS DEL ENJUAGUE BUCAL DE *QUERCUS  
CRASSIFOLIA* BONPL. EN PACIENTES CON  
PERIODONTITIS**

Para obtener el título de

**Maestra en Ciencias Biomédicas y de la  
Salud**

C.D. Esp. Iriana Yunuen Angeles Espinosa

Dr. Juan Eliezer Zamarripa Calderón

**Codirector (a)**

Dra. María del Carmen Alejandra Hernández  
Ceruelos

**Comité tutorial**

Dra. Adriana Ancona Meza

Dr. José Alejandro Rivera Gonzaga

Dr. Ana Josefina a Monjarás Ávila

Pachuca de Soto, Hidalgo, septiembre 2025



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias de la Salud

School of Medical Sciences

Área Académica de Medicina

Department of Medicine

01/08/2025

Asunto: Autorización de impresión

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

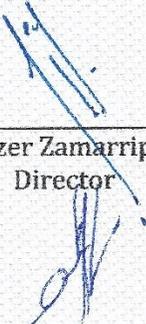
El Comité Tutorial de la **TESIS** del programa educativo de posgrado titulada **"Efectos del enjuague bucal de Quercus Crassifolia Bonpl. en pacientes con periodontitis"**, realizado por la sustentante **Iriana Yunuen Angeles Espinosa**, con número de cuenta 131243 perteneciente al programa de **Maestría 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:

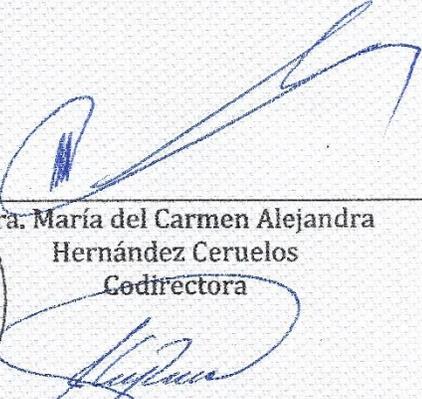
**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

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.

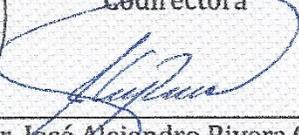
**Atentamente**  
**"Amor, Orden y Progreso"**  
**Pachuca, Hidalgo a 01 de agosto del 2025**

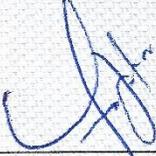
El Comité Tutorial

  
Dr. Juan Eliezer Zamarripa Calderón  
Director

  
Dra. María del Carmen Alejandra  
Hernández Ceruelos  
Codirectora

  
Dra. Adriana Leticia Ancona Meza  
Miembro del comité

  
Dr. José Alejandro Rivera Gonzaga  
Miembro del comité

  
Dra. Ana Josefina Monjarás Ávila  
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), número de CVU 610569.

Durante el periodo de abril a mayo del año 2024, se realizó una estancia nacional de investigación en la Facultad de Odontología, Laboratorio de Genética Molecular, en colaboración de la Dra. Argelia Almaguer Flores en la División de Estudios de Posgrado e Investigación, de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la Ciudad de México, de los Estados Unidos Mexicanos.

Agradezco la colaboración de la de la Universidad Nacional Autónoma México Facultad de Biología, Laboratorio de fitoquímica de FES Iztacala y al Herbario de la Facultad de Biología UNAM, Ciudad Universitaria.

Esta tesis es dedicada a Dios, Jesús Cristo y la Madre María que son quienes me guían y encomiendo mi espíritu, a mi madre y padre que son mis pilares, mi todo, a mis dos hermanos, sobrinos, Issac, Lorena y Efraín, quienes ahora son parte de mi familia.

Agradezco a mi Co- Directora la Dra. Alejandra Hernández Cerúleos, al Director de este proyecto el Dr. Eliazer Zamarripa, gracias por su apoyo, paciencia y sus enseñanzas, a la Dra. Argelia Almaguer Flores por su colaboración y entrega. Así también reitero mis sinceras gracias a la Dra. Adriana Ancona y Dr. Alejandro rivera. Gracias por las atenciones recibidas al laboratorio de inmunología de ICSa de la H. UAEH y a su titular la Dra. Iris López Santillán por permitirme desarrollar mi proyecto e investigación.

A todos aquellos Maestros, Doctores, que me han acompañado en el camino de aprendizaje, a lo largo de mi vida como estudiante, por su entrega y profesionalismo, gracias.

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>I</b>
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II ANTECEDENTES</b>	<b>2</b>
2.1 Generalidades	2
2.1.1 Periodontitis	2
2.1.1.2 Fisiopatología periodontal	3
2.1.2 Gingivitis	4
2.1.3 Prevalencia de enfermedades periodontales	5
2.1.4 Diagnóstico periodontal	6
2.1.5 Clasificación periodontal	8
2.1.6 Estadios	8
2.1.7 Extensión y distribución de periodontitis	10
2.1.8 Grados	10
2.1.8.1 Modificadores de grado	11
2.1.9 Tratamiento periodontal (tratamiento de periodontitis)	12
2.1.10 Microbiología	14
2.1.10.1 Microbioma	14
2.1.10.2 Definición	14
2.1.10.3 Características	15
2.1.10.4 Definición de biopelícula	15
2.1.10.5 Características	15
2.1.10.6 Biopelícula periodontal	16
2.1.10.7 Bacterias periodonto-patógenas	17
2.1.10.8 Fisiología de la periodontitis	21
<b>2.2 Antecedentes del problema</b>	<b>22</b>
2.2.1 Generalidades	22
2.2.2 Uso de antisépticos en periodoncia	22
2.2.3 Uso de extractos herbales en periodoncia	23
2.2.4 Clasificación de preparaciones medicinales a base de hierbas	25

2.2.5 Características generales de <i>Quercus spp.</i>	26
2.2.6 Usos de <i>Quercus spp.</i> en tratamientos para humanos	26
2.2.7 Actividades fármaco-biológicas de <i>Quercus spp.</i>	26
2.2.8 Farmacopea de <i>Quercus spp.</i>	28
2.2.9 Fitoquímica de <i>Quercus spp.</i>	28
2.2.10 Farmacocinética <i>Quercus spp.</i>	29
2.2.11 Efecto antimicrobiano de <i>Quercus spp.</i>	29
2.2.12 Efecto antiinflamatorio de <i>Quercus spp.</i>	37
2.2.13 Efecto antioxidante de <i>Quercus spp.</i>	44
2.2.14 Efecto anticancerígeno del ácido elágico obtenido de <i>Quercus spp.</i>	44
2.2.15 Efecto del uso de <i>Quercus spp.</i> a nivel óseo	44
2.2.16 Clorhexidina generalidades	45
2.2.17 Efecto citotóxico del gluconato de clorhexidina	47
2.2.18 <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. generalidades y sus características	48
2.2.18.1 Composición química de <i>Quercus crassifolia</i>	49
2.2.19 Efectos y usos de <i>Quercus crassifolia</i>	49
2.2.20 Citotoxicidad de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	49
2.2.21 Método citoma evaluación de la citotoxicidad en células epiteliales	50
2.2.21.1 Apoptosis y anormalidades nucleares	51
<b>2.3 Planteamiento del problema</b>	<b>56</b>
<b>III JUSTIFICACIÓN</b>	<b>58</b>
<b>IV HIPÓTESIS</b>	<b>60</b>
<b>V OBJETIVOS</b>	<b>61</b>
5.1 Objetivo General	61
5.2 Objetivos específicos	61

<b>VI MATERIALES Y MÉTODOS</b>	62
6.1 Contexto de la investigación	62
6.1.2 Tipo y diseño de estudio	63
6.2 Selección de la población, criterios de inclusión y exclusión	63
6.3 Tamaño de muestra y muestreo	65
6.4 Descripción de la población	65
6.5 Diagrama de diseño experimental	67
6.6 Definición de variables (dependientes, independientes)	68
6.7 Prueba (principio y procedimiento)	79
6.7.1 Obtención de la muestra de la corteza de Roble de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	79
6.7.2 Prensado y secado de la corteza de Roble	80
6.7.3 Astillado y obtención de la harina de roble de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	81
6.7.4 Preparación de la planta y su extracción (maceración)	82
6.7.5 Obtención del extracto hidroalcohólico de Roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	82
6.7.6 Obtención del extracto acuoso de la corteza de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	83
6.7.7 Evaluación del efecto antioxidante de los extractos de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. Ensayo de DPPH ( $\alpha$ -difenil- $\beta$ -picrilhidrazilo)	84
6.7.8 Evaluación cualitativa de los compuestos químicos de los extractos hidroalcohólico y acuoso de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	86
6.7.9 Prueba fitoquímica de cloruro férrico	86
6.7.10 Prueba Dragendorff	86
6.7.11 Prueba Liebermann Burchard	87
6.7.12 Prueba Fehling	87
6.7.13 Determinación de saponinas	88
6.7.14 Cultivos Bacterianos	88

6.7.15 Evaluación del efecto antimicrobiano de los extractos hidroalcohólico y acuoso de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	89
6.7.16 Método de micro dilución en placa (Concentración Mínima Inhibitoria)	89
6.7.17 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de los extractos de Roble (antibiograma)	91
6.7.18 Elaboración del enjuague bucal	92
6.7.19 Experimentación <i>in vivo</i> , toma de información periodontal clínica	92
6.7.20 Profundidad al sondeo	93
6.7.21 Sangrado al sondeo	93
6.7.22 Registro de placa dentobacteriana	94
6.7.23 Nivel de inserción periodontal	94
6.7.24 instrucciones del enjuague bucal	94
6.7.25 Método citoma, evaluación de citotoxicidad	95
6.8 Análisis Estadístico	97

<b>VII RESULTADOS</b>	99
7.1 Resultado de la identificación del árbol de roble de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. obtención de la muestra, secado y trituración de la corteza	99
7.2 Resultados de la obtención de un extracto hidroalcohólico y un extracto acuoso de roble de la especie <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	100
7.3 Resultado del análisis cualitativo de los compuestos químicos del extracto acuoso e hidroalcohólico de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	102
7.4 Evaluación del efecto antibacteriano en cuatro cepas periodonto-patógenas	104
7.4.1 Resultados del análisis comparativo de las medias de la concentración mínima inhibitoria (CMI)	107
7.5 Evaluación del efecto antioxidante del extracto acuoso e hidroalcohólico de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	117
7.6 Elaboración de un enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de roble	121
7.7 Resultados de la respuesta al tratamiento periodontal	122
7.8 Resultado de la evaluación citotóxica por el uso del enjuague de roble	125

<b>VIII DISCUSIÓN</b>	131
8.1 Pruebas fitoquímicas cualitativas y compuestos químicos bioactivos de los extractos acuoso e hidroalcohólico de roble <i>Q. crassifolia</i> Bonpl.	131
8.2 Efecto antioxidante de los extractos acuoso e hidroalcohólico de roble <i>Q. crassifolia</i> Bonpl.	133
8.3 Efecto antimicrobiano de los extractos acuoso e hidroalcohólico de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	134
8.4 Efecto clínico periodontal del enjuague bucal de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	136
8.5 Efecto citotóxico del enjuague bucal de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	138
<b>IX CONCLUSIONES</b>	142
9.1 Conclusión de la actividad antioxidante de extractos hidroalcohólico y acuoso de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	142
9.2 Conclusión del efecto antibacteriano del enjuague bucal de clorhexidina contra enjuague bucal de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	142
9.3 Conclusión del efecto citotóxico del enjuague bucal de clorhexidina contra enjuague bucal de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	143
9.4 Conclusiones del efecto del enjuague bucal en los parámetros clínicos periodontales	143
9.5 Conclusiones de los resultados fitoquímicos de los extractos de roble de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	144
<b>X RECOMENDACIONES</b>	146
10.1 Alcances y limitaciones	146

<b>XI REFERENCIAS</b>	148
<b>XII ANEXOS</b>	160
12.1 Consentimiento informado para investigación de uso de enjuague de roble en pacientes con periodontitis Estadio I, II, III y IV	160
12.1.2. Aprobación del comité de ética del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo	163
12.2 Constancia de calibración de clínicos para estudios clínicos periodontales	164
12.2.3 Periodontograma para vaciado de información periodontal	165

## ÍNDICE DE FIGURAS

VII

Figura 1. Fisiopatología periodontal, mediadores de inflamación y citocinas inflamatorias en el desarrollo de la periodontitis	4
Figura 2. Representación de los estadios periodontales y sus características clínicas	10
Figura 3. Formación de biopelícula y grupos microbianos de Socransky, realizada en BioRender y Power Point.	17
Figura 4. Estructura química de la clorhexidina	46
Diagrama 1. Diseño experimental	67
Figura 5. Obtención de la corteza de roble y fotografía del árbol de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	79
Figura 6. Método de obtención del extracto hidroalcohólico de roble.	82
Figura 7. Esterilización de los extractos hidroalcohólico y acuoso de la corteza de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	83
Figura 8. Método para obtención de extracto acuoso de la corteza de roble.	84
Figura 9. Ensayo para la obtención de las concentraciones mínimas inhibitorias.	90
Figura 10. Experimento de antibiograma para determinación de susceptibilidad de los compuestos de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	92
Imagen 1. Fotografía que muestra la técnica de sondeo periodontal	93
Figura 11. Ensayo de citoma	96
Figura 12. Imágenes obtenidas del artículo de Bolognesi y colaboradores (2013), método citoma.	97
Figura 13. Obtención y procesado de la muestra	99
Figura 14. Empaquetamiento al vacío de harina de roble	100
Figura 15. Obtención de extractos de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. (E) extracto acuoso, (F) extracto hidroalcohólico de roble	101
Figura 16. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de <i>P. gingivalis</i>	109
Figura 17. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de <i>P. gingivalis</i> , evaluación de diámetro del halo de inhibición	110

VII

Figura 18. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de <i>F. nuc. nuc.</i>	111
Figura 19. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de <i>F. nuc. nuc.</i>	112
Figura 20. Resultados de halo de inhibición de los antibiogramas por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de <i>A. a.</i> serotipo b	113
Figura 21. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de <i>A. a.</i> serotipo b	114
Figura 22. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de <i>A. israelii</i>	115
Figura 23. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de <i>A. israelii</i>	116
Figura 24. Almacenamiento, refrigeración etiquetada de los enjuagues	122
Figura 25. Resultados de las pruebas no paramétricas de células apoptóticas	127
Gráfica 1. Representa el porcentaje de células apoptóticas en el tratamiento con enjuague de roble	128
Gráfica 2. Representa el porcentaje de células apoptóticas en el tratamiento con enjuague de clorhexidina	128
Figura 26. Resultados de las pruebas no paramétricas de células con anormalidades nucleares	129
Gráfica 3. Representa el número de células con anormalidades nucleares en el tratamiento con enjuague de roble	130
Gráfica 4. Representa el número de células con anormalidades nucleares en el tratamiento con enjuague de clorhexidina	130

## ÍNDICE DE TABLAS

IX

Tabla 1. Bacterias periodontopatógenas del grupo rojo, factores de virulencia y acción a nivel celular del huésped, modificación	17
Tabla 2. Bacterias periodontopatógenas y benéficas de la cavidad oral	19
Tabla 3. Modificación de actividades fármaco-biológicas de los ingredientes individuales de <i>Quercus spp.</i>	27
Tabla 4. Resumen de ensayos sobre los efectos antimicrobianos de extractos o geles en cepas bacterianas	32
Tabla 5. Resumen de estudios Actividad antiinflamatoria de la intervención de extractos de <i>Quercus spp.</i>	40
Tabla 6. Datos taxonómicos de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	48
Tabla 7. Características de células diferenciadas, apoptóticas y con alteraciones genéticas de acuerdo a los criterios de Bolognesi	52
Tabla 8. Definición de variables dependientes, independientes	68
Tabla 9. Etiqueta de la muestra de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	81
Tabla 10. Resultado del rendimiento de los extractos hidroalcohólico y acuoso de Roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. y sus características organolépticas	102
Tabla 11. Resumen de los resultados de las pruebas colorimétricas para determinación de los posibles compuestos químicos de los extractos de roble de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	103
Tabla 12. Resumen de medias de halos de inhibición de 4 cepas periodontopatógenas, <i>Actinomyces israelii</i> , <i>A. actinomycetemcomitans serotipo b</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>F. nucleatum nucleatum</i>	105
Tabla 13. Comparativa de las medias de halos de inhibición de 4 cepas periodontopatógenas, <i>Actinomyces israelii</i> , <i>A. actinomycetemcomitans serotipo b</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> ., <i>F. nucleatum nucleatum</i> y su comparación entre grupos de antimicrobianos y control negativo	106
Tabla 14. Comparativa entre concentraciones mínimas inhibitorias	107
Tabla 15. Comparativa de UFC (Medias)	107
Tabla 16. Comparación de medias de unidades Formadoras de colonia	108

IX

Tabla 17. Comparativa de control positivo, solvente, medio de cultivo, bacteria	108
Tabla 18. Absorbancia de los extractos hidroalcohólico de roble y acuoso	118
Tabla 19. Comparación entre grupos con diferentes concentraciones de los extractos hidroalcohólico y acuoso de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. contra vitamina E y DPPH	120
Tabla 20. Comparación de diagnóstico inicial y de revaloración periodontal	124
Tabla 21. Comparativa: medias Iniciales contra medias de revaloración por grupo Clorhexidina contra Roble	124

## ABREVIATURAS

XI

**MIC** concentración mínima inhibitoria.

**CHX** Clorhexidina

**SFF** Solución fisiológica

**A.a.** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

**P.g.** *Porfiromonas gingivalis*

**Q.i.** *Quercus infectoria*

**RT-PCR** Reacción en Cadena de la Polimerasa transcripción inversa.

**HPLC-DAD** cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos

**E. coli** *Escherichia coli*

**P. aeruginosa** *Pseudomonas aeruginosa*.

**M. flavus** *Micrococcus flavus*

**S. aureus** *Staphylococcus aureus*

**S. paratyphi** *Salmonella paratyphi*

**MIB** Concentración mínima bactericida

**Na CMC** (carboximetilcelulosa de sodio)

**mg** Miligramos

**mL** Mililitros

**Q.** *Quercus*

**Q. acutissima**, *Quercus acutissima*

**Q. macrocarpa**, *Quercus macrocarpa*

**Q. robur** *Quercus robur*

**Q.i/Q. infectoria.** *Quercus infectoria*

**Q.spp.** *Quercus* subespecie

**Qi** *Quercus infectoria*

**TNF** Factor de Necrosis Tumoral

**HA** Extracto hidroalcohólico

**AQ** Extracto acuoso

**DPPH** 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

XI

**CMI** Concentración mínima inhibitoria

**A.i.** *Actinomyces israelii*

**F. nuc. nuc.** *Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum*

Este estudio evaluó los efectos *in vitro* e *in vivo* dos extractos uno hidroalcohólico (HA) y uno acuoso (AQ) de *Quercus crassifolia* Bonpl. (roble mexicano), tradicionalmente usado para tratar la periodontitis. **Objetivo:** validar su bioseguridad y efectos en la inflamación clínica periodontal, antimicrobianos y antioxidantes. **Métodos:** la actividad antimicrobiana, fue evaluada con antibiogramas (halos de inhibición), se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a bacterias periodontales (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo b, *Fusobacterium nuc. nuc.*, *Actinomyces israelii*). La actividad antioxidante, se determinó mediante el ensayo de DPPH. Los ensayos fitoquímicos, identificaron saponinas, polifenoles y fitoesteroles en ambos extractos además de la ausencia de alcaloides. El ensayo clínico se llevó a cabo con 32 pacientes con periodontitis los cuales recibieron tratamiento no quirúrgico periodontal (raspado y alisado radicular), fueron divididos en dos grupos: uno usó enjuague de clorhexidina (CHX) al 0.12% (n=15) y otro, enjuague de *Q. crassifolia* Bonpl. (n=17) durante dos semanas cada 12 horas; se evaluaron parámetros como sangrado al sondeo (SS), nivel de inserción clínico (NIC), profundidad de bolsas (PB), placa dentobacteriana (PLA) y bolsas residuales. La genotoxicidad se analizó con el ensayo de micronúcleos. **Resultados:** efecto antioxidante, el extracto HA con concentración de 500 mg/mL mostró mayor actividad antioxidante (absorbancia:  $0.357 \pm 0.150$  nm X  $\pm$  DE) que el AQ ( $0.080 \pm 0.013$  150 nm X  $\pm$  DE; (p < 0.05), aunque ambos fueron significativamente activos.

Efecto antimicrobiano; el extracto HA presentó mayores halos de inhibición que el AQ, especialmente frente a *A.a.b* y *F. nuc. nuc.* (p < 0.05), aunque la CHX al 0.20% grado reactivo, fue más efectiva. La CMI del HA osciló entre 62.5–15.6 mg/mL. En el ensayo clínico, ambos grupos mostraron mejoría en SS, NIC, PB y PLA postratamiento, sin diferencias significativas entre CHX y el enjuague de roble (p > 0.05). En cuanto a la bioseguridad, no se determinó genotoxicidad en ninguno de

los grupos. **Conclusiones:** los extractos de *Q. crassifolia*, especialmente el HA, exhibieron propiedades antioxidantes y antimicrobianas importantes con respecto al AQ, aunque su efecto antimicrobiano fue menor que el de la CHX al 0.20% grado reactivo, el enjuague de roble demostró ser clínicamente similar al enjuague de CHX al 0.12% en cuanto a la reducción de la inflamación gingival, sin presentar efectos genotóxicos. Estos resultados sugieren que *Q. crassifolia* Bonpl. es una alternativa natural y segura, adyuvante para el tratamiento periodontal no quirúrgico, respaldando así el uso etnobotánico de la planta, sin embargo, se requieren más estudios para optimizar su eficacia.

**Palabras clave:** *Quercus crassifolia*, *periodontitis*, *antimicrobiano*, *antioxidante*, *enjuague bucal*, *micronucleos*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b*, *Fusobacterium nucleatum nucleatum* y *Actinomyces israelii*.

This study evaluated the effects in vitro and in vivo of two extracts, one hydroalcoholic (HA) and one aqueous (AQ) of *Quercus crassifolia* Bonpl. (Mexican oak), traditionally used to treat periodontitis. **Objective:** to validate its biosafety and effects on clinical periodontal inflammation, antimicrobials and antioxidants. **Methods:** the antimicrobial activity was evaluated with antimicrobial susceptibility tests (inhibition halos), and the minimum inhibitory concentration (MIC) against periodontal bacteria (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotype b, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces israelii*) was determined. Antioxidant activity was determined by the DPPH assay. Phytochemical assays identified saponins, polyphenols and phytosterols in both extracts in addition to the absence of alkaloids. The clinical trial was carried out with 32 patients with periodontitis who received non-surgical periodontal treatment (scaling and root planing), they were divided into two groups: one used 0.12% chlorhexidine (CHX) rinse (n=15) and the other, *Q. crassifolia* Bonpl rinse. (n=17) for two weeks every 12 hours; parameters such as bleeding on probing (SS), clinical attachment level (CIN), pocket depth (PB), dental plaque (PLA) and residual pockets were evaluated. Genotoxicity was analyzed with the micronucleus assay. **Results:** antioxidant effect, the HA extract with a concentration of 500 mg/mL showed greater antioxidant activity (absorbance:  $0.357 \pm 0.150$  nm X  $\pm$  SD) than AQ ( $0.080 \pm 0.013$  150 nm X SD  $\pm$ ; ( $p < 0.05$ ), although both were significantly active. Antimicrobial effect; the HA extract presented greater inhibition halos than the AQ, especially against A.a.b and F. nuc. nuc. ( $p < 0.05$ ), although 0.20% reactive grade CHX was more effective. HA MIC ranged from 62.5–15.6 mg/mL. In the clinical trial, both groups showed improvement in post-treatment SS, CIN, PB, and PLA, with no significant differences between CHX and oak rinse ( $p > 0.05$ ). Regarding biosafety, genotoxicity was not determined in any of the groups. **Conclusions:** extracts of *Q. crassifolia*, especially HA, exhibited important antioxidant and antimicrobial properties with respect to AQ, although its antimicrobial effect was less than that of

0.20% reactive grade CHX, oak rinse was shown to be clinically similar to 0.12% CHX rinse in terms of reducing gingival inflammation, without presenting genotoxic effects. These results suggest that *Q. crassifolia* Bonpl. It is a natural and safe, adjuvant alternative for non-surgical periodontal treatment, thus supporting the ethnobotanical use of the plant, however, more studies are required to optimize its efficacy.

**Keywords:** *Quercus crassifolia*, periodontitis, antimicrobial, antioxidant, mouthwash, micronuclei, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotype b, *Fusobacterium nucleatum nucleatum* and *Actinomyces israelii*.

## I INTRODUCCIÓN

El uso tradicional de la corteza de encino en México entre los grupos étnicos, para tratar diferentes enfermedades, como el dolor de estómago, quemaduras, infecciones y dolor, es sumamente frecuente. La información sobre los encinos mexicanos es escasa, así como el reporte de usos clínicos<sup>1</sup>, en las comunidades de Huasca de Ocampo y Omitlán de Juárez, Atotonilco el Grande, Hidalgo, se encuentra una gran diversidad de robles, los cuales también son llamados encinos comúnmente usados como medicina tradicional para control de infecciones bucales.<sup>2,3</sup>

A continuación, se presentan testimonios de algunos integrantes de la comunidad de Agua Blanca del Municipio de Atotonilco el Grande, Huasca de Ocampo, Pachuca de soto Hidalgo por las cuales nos hemos dado a la tarea de investigar, el uso del árbol de roble o encino para tratamiento de infecciones o enfermedades, periodontales.

“Yo uso la cáscara de encino cuando se me hincha la encía o cuando me duelen las muelas, la hiervo y me hago enjuagues”

“Yo compro la corteza del tronco en el mercado revolución porque me dijeron que era buena para mi periodontitis”

“Soy profesora de la comunidad de San Miguel en Huasca y me consigue una mamá de mi alumno la corteza para mi periodontitis”

“Mi Dentista me dijo que comprara un jarabe de encino en la Cruz Blanca en el centro, para curar mi periodontitis, no note cambio”

## **II ANTECEDENTES**

### **2.1 Generalidades**

En la cavidad bucal humana existe una colonización de 700 especies bacterianas<sup>4</sup>, la mayoría de estas bacterias son comensales, pero también existen bacterias patógenas.<sup>4, 5,6</sup>

La periodontitis es una de las enfermedades más comunes en el mundo, que conlleva a la pérdida progresiva de los dientes, esto debido a que ocasiona la pérdida de los tejidos de soporte circundantes a estos, lo cual representa un problema de salud importante ya que esto está contribuyendo a la carga de enfermedades crónicas a nivel mundial, la presencia de las infecciones periodontales puede aunarse a alguna otra enfermedad crónica degenerativa.<sup>6,7</sup>

La biopelícula dental subgingival desencadena una respuesta inflamatoria e inmunitaria del huésped, que finalmente conlleva a la destrucción irreversible de los tejidos periodontales en un ser humano huésped<sup>8</sup>, está compuesta en su mayoría por bacterias Gram negativas conocidas como el grupo rojo.<sup>9,10</sup>

#### **2.1.1 Periodontitis**

“Periodontitis” es un término que sugiere la mezcla de dos palabras “periodonto” que significa el conjunto de tejidos o estructuras que rodean a los dientes, e “itis” que significa inflamación, inicialmente afecta la encía, pero ocasiona la inflamación de tejidos más profundos dando como resultado la alteración de la homeostasis ósea y causando la pérdida de los dientes.<sup>7</sup>

La periodontitis se ha definido como una enfermedad multifactorial inflamatoria crónica asociada a biopelículas disbióticas bucales, en las que destacan como características principales la pérdida de soporte de tejido periodontal, es decir pérdida de inserción clínica y ósea alveolar que es observable a través de radiografías, además de la presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival.<sup>11</sup>

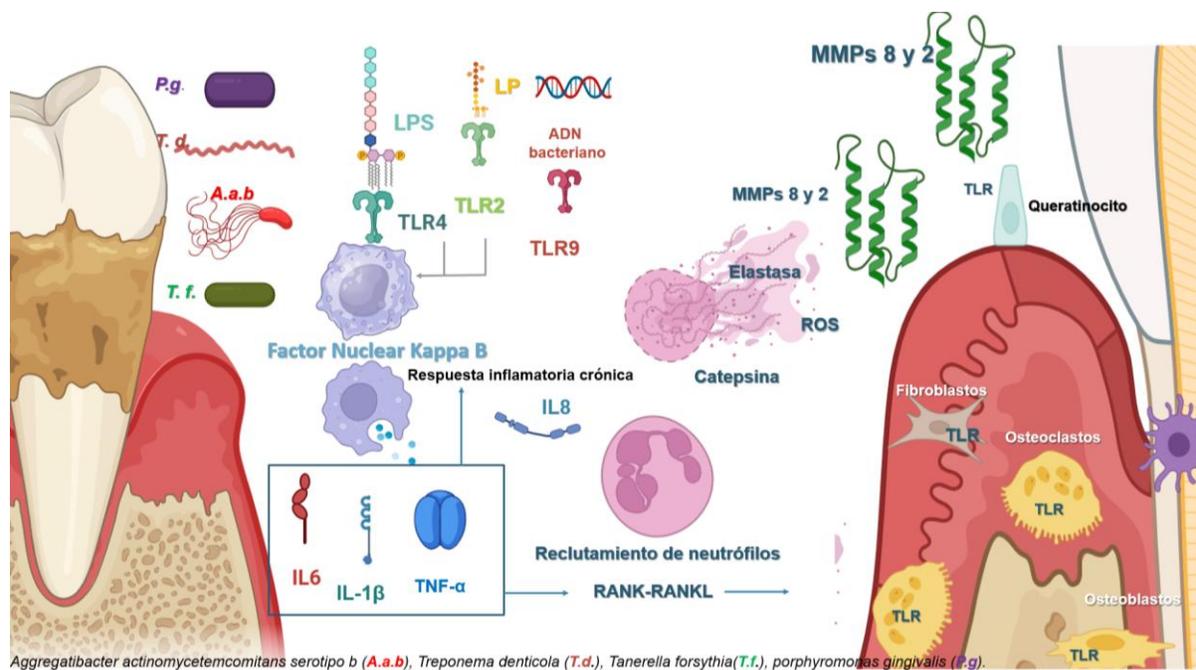
La periodontitis es un problema de salud pública de gran importancia debido a su prevalencia, puede conducir a la pérdida dental, función masticatoria y estética, lo que sugiere un impacto sumamente negativo en la salud general.<sup>11</sup>

### **2.1.1.2 Fisiopatología periodontal**

A nivel histopatológico dentro de la lámina propia, las fibras de colágeno se degradan y conducen a alteraciones del epitelio del surco gingival, lo que se traduce a la presencia de sangrado.<sup>12</sup>

La reabsorción ósea es ocasionada por la respuesta inmune y la inflamación del huésped debido a un ataque microbiano, sin embargo, no se ha establecido los mecanismos mediante los cuales la respuesta inmunitaria local contra las bacterias periodontopatógenas disrumpe el equilibrio homeostático de la formación y resorción ósea, favoreciendo la pérdida ósea, se diferencia de los precursores monocitos y macrófagos que están regulados por citocinas como el factor estimulante de colonias de macrófagos, ligando RANK y osteoprotegerina. Respecto a la TNF- $\alpha$ , la IL-1 y la PGE2 también promueven la actividad osteoclástica, específicamente en estados de osteólisis inflamatoria como los producidos en la periodontitis; Los procesos patogénicos de las enfermedades periodontales inflamatorias son iniciados por la microflora de la placa subgingival (biopelícula subgingival) y el lipopolisacárido A derivado de patógenos específicos. La inflamación está mediada por las células inflamatorias del huésped y la activación de linfocitos T y B, que son las precursoras de la respuesta inmunitaria adaptativa mediante la regulación del eje regularos Th1-Th2-Th17. Principalmente los linfocitos de tipo Th1, los macrófagos de los linfocitos B y neutrófilos promueve la pérdida ósea por el aumento de la producción de mediadores de la inflamación y la activación de las vías que expresan al RANK-L.<sup>12,13,14,15</sup> La degradación del colágeno puede ser mediada directamente por proteasas bacterianas con o sin que exista inflamación de significancia, específicamente por enzimas secretadas por leucocitos polimorfonucleares (PMNs). La periodontitis conlleva a la pérdida de

tejido conectivo mediado por colagenasas de células del huésped.<sup>15,16</sup> Las colagenasas son miembros de la familia de metaloproteasas de la matriz (MMP), son enzimas proteolíticas que están involucradas en la degradación y remodelación de la matriz extracelular en las enfermedades periodontales, los fibroblastos, células epiteliales y macrófagos, sintetizan MMP-1 (colagenasa 1), los neutrófilos producen MMP-8 (colagenasa 2)<sup>17</sup>, la MMP-13 (colagenasa 3)<sup>18</sup>, es producida por células epiteliales y mesenquimales sobre todo en tejidos conectivos con inflamación, en proceso de remodelación y en cicatrización. Las tres enzimas anteriormente mencionadas contribuyen a la función colagenolítica de los tejidos periodontales enfermos.<sup>19,20,21</sup> Véase figura 1.



**Figura 1. Fisiopatología periodontal, mediadores de inflamación y citoquinas inflamatorias en el desarrollo de la periodontitis.**

### 2.1.2 Gingivitis

La gingivitis es una enfermedad inflamatoria de la encía, cuya etiología es la placa dentobacteriana que se agrega cercana o adyacente al surco de la encía, además de los factores locales y sistémicos que favorecen la depósitos acumulados y retenidos de placa dentobacteriana.<sup>12</sup> La gingivitis es la etapa inicial de la respuesta

inflamatoria del ser humano a la presencia bacteriana y a los factores locales de retención de biopelícula en la cavidad oral, en este punto es reversible, ya que no conduce a la pérdida de ningún tejido de soporte periodontal o hueso alveolar.<sup>22,23</sup> Existen dos tipos principales de gingivitis, la inducida por placa dentobacteriana y la no inducida, la última puede estar asociada como manifestaciones de enfermedades sistémicas.<sup>24</sup>

La gingivitis inducida por placa dentobacteriana se reconoce como una enfermedad inflamatoria producida por el acumulo de placa dentobacteriana que afecta solo a la encía, sin presencia de pérdida de inserción y de hueso alveolar, es reversible toda vez que se realice el tratamiento periodontal adecuado, que consiste en la eliminación mecánica de cálculo y placa.<sup>24,25</sup>

La gingivitis se identifica cuando al realizar la toma de información periodontal se identifica sangrado al sondeo (>10 % de sitios de los dientes presentes en boca), se presentan signos de inflamación del margen gingival, pérdida del margen en filo de cuchillo y de la anatomía afilada de las papilas interdentes, bolsas periodontales no mayores a 3 mm, sangrado al cepillado, mal aliento y sabor metálico. La obtención del porcentaje del sangrado al sondeo indica la extensión de la gingivitis, se clasifica como gingivitis localizada si hay un sangrado del 10 al 30% y generalizada si es mayor al 30%.<sup>23,24,25</sup>

### **2.1.3 Prevalencia de enfermedades periodontales**

En la actualidad se sabe que aproximadamente 1 de cada 10 adultos tiene periodontitis severa estadio III y IV y que solo el 10 % de la población es sana, el 80 % restante de los sujetos padecen gingivitis de leve a moderada o bien periodontitis moderada, es decir periodontitis estadio I y II. El diagnóstico diferencial entre una periodontitis leve y gingivitis es dependiente de la pérdida de nivel de inserción interdental lo cual a su vez justifica iniciar tratamientos periodontales.<sup>26,27,28</sup>

Actualmente se establece la presencia de periodontitis cuando:

1. La pérdida del nivel de inserción clínica interdental se identifica en dos o más dientes adyacentes.
2. La pérdida de nivel de inserción clínica bucal es igual o mayor a 3mm y se presentan bolsas periodontales mayores de 3 mm en dos o más dientes.<sup>27,29</sup>

#### **2.1.4 Diagnóstico periodontal**

El diagnóstico periodontal se obtiene a través de un historial médico del paciente antes de la evaluación clínica periodontal, con la finalidad de identificar factores de riesgo sistémicos o medioambientales que puedan favorecer la presencia de periodontitis. La valoración clínica periodontal integral incluye varios parámetros clínicos como los son el índice de biopelícula, la profundidad de bolsa periodontal, la presencia o la ausencia de sangrado al sondeo, recesiones gingivales, las deformidades mucogingivales, la afectación de furcas, movilidad dental y trauma oclusal además del nivel de inserción.<sup>9,30</sup>

De acuerdo al World Workshop 2017 establece una nueva clasificación de enfermedades periodontales y periimplantarias la cual categoriza la enfermedad de acuerdo a un sistema de estadios en la que se determina la severidad de la enfermedad y la complejidad de su tratamiento, esta clasificación puede usarse como indicador de la tasa de progresión de la periodontitis la cual se expresa en grados, estos están condicionados a la presencia de factores de riesgo.<sup>11,29</sup>

En el artículo escrito por Tonetti y Sanz del 2018 se describe un algoritmo el cual consta de cuatro pasos secuenciales para la identificación de un paciente con probable periodontitis:

**Primer paso:** paciente de nuevo ingreso, identificación de un paciente con probable periodontitis, (discernir entre salud periodontal, gingivitis y periodontitis).

Consiste en identificar si el paciente tiene la disposición de una atención médica integral, y el requerimiento de radiografías completas, en caso de que el paciente

tenga disposición se deberá evaluar el hueso alveolar y su localización, en caso de identificar la pérdida ósea, el clínico debe sospechar la presencia de periodontitis y dar seguimiento al segundo paso.<sup>25,26,27</sup>

**Segundo paso:** confirmación del diagnóstico periodontal, diagnóstico diferencial entre periodontitis y otras enfermedades periodontales con pérdida del nivel de inserción, (Sospecha del diagnóstico de periodontitis). El odontólogo debe identificar la pérdida nivel de inserción interdental y la pérdida de hueso marginal en el examen bucal toda vez que se ha identificado al paciente como un caso potencial de periodontitis, a un paciente con periodontitis deberá hacerse una evaluación radiográfica y fotográfica periodontal, además de integrar la evaluación clínica. Cuando no existen bolsas periodontales de más de 4 mm, se debe evaluar el sangrado al sondeo bucal, cuando este es mayor al 10% es una inflamación gingival en un paciente con periodontitis, y si es menor el diagnóstico es un paciente con periodonto reducido sano.<sup>27</sup>

**Tercer paso:** establecer el estadio de la periodontitis (Evaluar complejidad y severidad). Se evaluará la extensión de la enfermedad periodontal determinado por la pérdida del nivel de inserción y el nivel del óseo, que afecta menos del 30% de los dientes y lo denominaremos localizado y si afecta más del 30% de los dientes lo definimos como generalizado. Posteriormente a esto se debe identificar el estadio de la periodontitis evaluando la gravedad a través de la pérdida de nivel de inserción.<sup>27</sup>

**Cuarto paso:** (evaluación del perfil del riesgo).

Existen dos opciones para establecer el grado de periodontitis, la primera es cuando los registros anteriores de nuestros pacientes tienen disponibilidad, la tasa de progresión de periodontitis, se deberán estimar los 5 años anteriores de los estudios radiográficos dentoalveolares realizados, esto permitirá establecer el grado de progresión de la periodontitis y la segunda cuando no se dispone de los estudios

radiográficos se deberá tomar en consideración, la relación hueso/edad esto debe obtenerse con las radiografías dentoalveolares completas y se utilizará el diente más afectado para la identificación de la mayor pérdida ósea. El proceso propuesto permite discernir las diferentes condiciones del paciente de salud y de enfermedad periodontal.<sup>27, 30,31</sup>

### **2.1.5 Clasificación periodontal**

La clasificación del 2018 por estadios depende de la severidad y complejidad del manejo de la enfermedad periodontal (periodontitis), además de la presentación de la misma, la clasificación complementa las características biológicas de la periodontitis, como lo son: la tasa de progresión, evaluación de riesgo de progresión y del tratamiento, así como el riesgo a la salud en general del paciente.<sup>11</sup>

Está basada en Estadios determinados por la severidad de la periodontitis (según el nivel de pérdida de inserción clínica interdental y ósea observada radiográficamente, pérdida dental, complejidad, extensión y la distribución.<sup>11,29</sup>

### **2.1.6 Estadios**

Estadios periodontales expresan la severidad, complejidad, extensión y distribución de la enfermedad, el estadio I indica una periodontitis inicial; el estadio II a la periodontitis moderada; el estadio III indica periodontitis severa con pérdida potencial adicional dental; la periodontitis severa con potencial pérdida de toda la dentición se indica en el estadio IV.<sup>11,27,29</sup>

#### **Estadio I**

Severidad: pérdida del nivel de inserción interdental (considerando el sitio de mayor pérdida 1-2mm, pérdida ósea radiográfica  $\leq 15\%$  del tercio coronal de la raíz, no hay pérdida de dientes por periodontitis. Complejidad: local,  $\leq 4$  mm de profundidad máxima al sondeo, pérdida ósea horizontal mayoritariamente.<sup>11,27,29</sup>

## **Estadio II**

Severidad: Pérdida del nivel de inserción interdental (sitio de mayor pérdida) 3-4mm, Pérdida ósea radiográfica tercio coronal (15 a 33%).

Complejidad: local  $\leq$  5 mm profundidad máxima al sondeo, principalmente pérdida ósea horizontal. <sup>11,27</sup>

## **Estadio III**

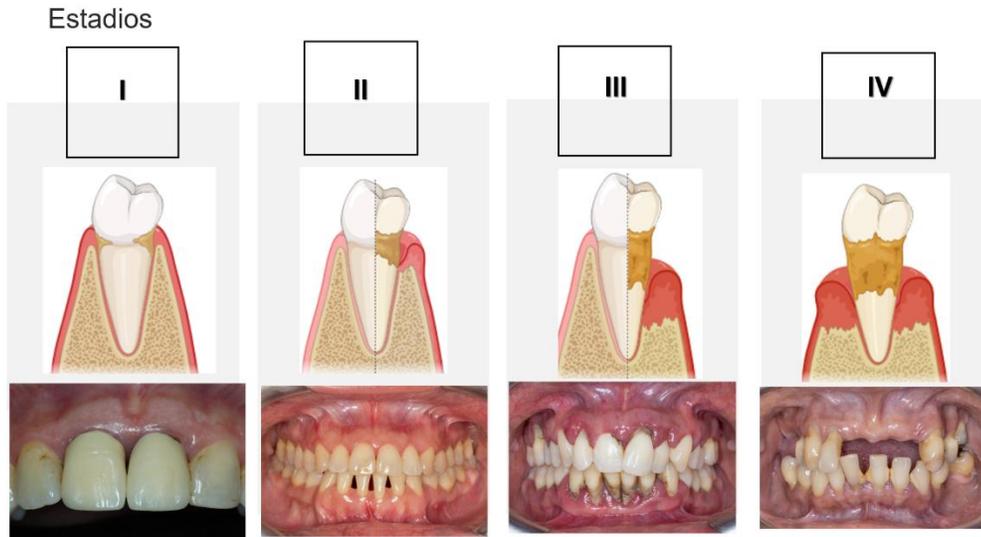
Severidad:

Pérdida del nivel de inserción interdental (sitio de mayor pérdida)  $\geq$ 5mm, Pérdida ósea radiográfica extensión del tercio medio o al tercio apical de la raíz, pérdida dental por causa periodontal  $\leq$  4 dientes. <sup>11,27</sup>

## **Estadio IV**

Severidad: pérdida del nivel de inserción interdental (sitio de mayor pérdida)  $\geq$ 5mm, Pérdida ósea radiográfica extensión del tercio medio o al tercio apical de la raíz, pérdida dental por causa periodontal  $\geq$ 5 dientes. <sup>11,27</sup>

Se considera adicionar la complejidad de Estadio III, se requiere de rehabilitación compleja debido a la masticación disfuncional, trauma oclusal secundario, movilidad de los dientes grado 2 o incluso mayor, defecto del reborde óseo severo, colapso de la mordida, migración de los dientes, proinclinación dental, menos de 20 dientes presentes de estos 10 con antagonista. <sup>11,27</sup> Véase figura 2.



**Figura 2. Representación de los estadios periodontales y sus características clínicas.**

### **2.1.7 Extensión y distribución de periodontitis**

**Extensión y distribución:** se debe agregar a cada uno de los estadios como un descriptor, hay dos, la extensión localizada que se refiere a menos del 30% de los dientes involucrados, generalizada más de 30% de los dientes implicados, o patrón molar incisivo.<sup>29</sup>

En algunas ocasiones pueden estar presentes algunas características de la complejidad sin embargo solo es necesario con que un único factor de complejidad se exprese lo que conlleva a que se cambie a un estadio más avanzado.<sup>28</sup> La periodontitis estadio III y IV se pueden identificar por sus características claras, pero el diagnóstico diferencial entre la periodontitis leve y gingivitis requieren de una correcta evaluación del nivel de inserción clínico interdental lo cual justificará iniciar cualquier tratamiento periodontal.<sup>27,29</sup>

### **2.1.8 Grados**

El Grado es un indicador de la velocidad o bien la tasa de progresión de la periodontitis, son tres grados, el A representa un grado de progresión lenta, el B una progresión moderada y el grado C se refiere a una progresión rápida.<sup>29</sup>

1. Evidencia directa de progresión, los datos radiográficos muestran una pérdida ósea alveolar o de inserción clínica, con una temporalidad de cinco años de evaluación. En el grado A no hay evidencia de pérdida ósea, grado B hay pérdida ósea menor de 2 mm y el grado C se presenta una pérdida de más o igual a 2mm.<sup>27,29</sup>

2. Evidencia indirecta de progresión: Debido a la falta de información previa de la pérdida ósea radiográfica o de inserción clínica, se considera determinar el grado por el porcentaje de pérdida ósea dividida entre la edad cronológica del paciente. Al realizar división podremos obtener un valor numérico que indicará el grado en el que se categoriza la condición del paciente, grado A es menor a 0.25, el grado B es de 0.25 a 1.0 y en el grado C es mayor a 1.0, considerando el sitio, se debe seleccionar el diente con mayor pérdida ósea, o mayor severidad de afección de los tejidos periodontales.<sup>27,29,30</sup>

La evidencia indirecta pudiera asignarse por la respuesta de los tejidos periodontales a la presencia de la biopelícula dental es decir la relación de la severidad de pérdida de tejidos periodontales en relación a la cantidad de depósitos microbianos como: Niveles bajos de destrucción referente al grado A en relación a la cantidad de biopelícula, en el grado B los depósitos de biopelícula dental son acordes a la destrucción de tejidos y en el grado C hay una gran destrucción de tejidos respecto a la presencia o cantidad de biopelícula, La falta de respuesta en las terapias periodontales se incluye el patrón incisivo molar.<sup>27,29</sup>

#### **2.1.8.1 Modificadores de grado**

Los modificadores de grado sugieren a los factores de riesgo como el tabaquismo, control glicémico en pacientes diabéticos: el grado A se incluye a los no fumadores, sin diabetes o normoglucémicos, en el grado B se destaca Hemoglobina glicosilada de <7% en pacientes con diabetes, grado C en pacientes diabéticos ≥7% de hemoglobina glicosilada, fumadores de >10 cigarrillos al día. Riesgo de impacto sistémico de periodontitis, se refiere a la carga inflamatoria determinada a través de

una prueba de PCR de alta sensibilidad, el grado A es 1 mg/L, grado B 1-3 mg/L, Grado C >3 mg/L. (3)<sup>27,29,30,31</sup>

### **2.1.9 Tratamiento periodontal (tratamiento de periodontitis)**

La eliminación de los factores causales, biopelícula y la disminución de los factores de riesgo son importantes para la prevención y tratamiento exitoso de periodontitis a largo plazo, al finalizar la terapia periodontal no quirúrgica en la cual es predominante el control personal de biopelícula en casa y el raspado y alisado radicular (terapia periodontal no quirúrgica) , se realizan tratamientos quirúrgicos regenerativos o bien quirúrgicos resectivos para eliminar sitios con actividad inflamatoria periodontal, se debe considerar la importancia del mantenimiento periodontal que definirá el éxito del tratamiento a largo plazo.<sup>32</sup>

Se realizó una guía práctica clínica (GPC) de nivel 3 (S3) para el tratamiento de la periodontitis en estadio I al estadio III, la cual establece una terapéutica dependiente del estadio de la enfermedad, e incluye diversas intervenciones de lo menos invasivo a lo más avanzado. Se ha logrado un consenso sobre las recomendaciones que cubren diferentes intervenciones, con la siguiente guía.<sup>31,32</sup>

El primer paso de la terapia periodontal consiste en orientar el cambio de comportamiento de los pacientes con compromiso periodontal, motivándolos a realizar una eliminación exitosa de la biopelícula dental supragingival y el control de los factores de riesgo por lo cual se pueden incluir las intervenciones que a continuación se mencionan: control personal de la biopelícula supragingival. Intervenciones como la motivación, instrucciones de higiene bucal para mejorar la eficacia de la misma.<sup>32,33</sup>

Uso de terapias complementarias para el control de la inflamación gingival, como lo son la eliminación mecánica profesional de placa dental, que consisten en intervenir profesionalmente para eliminar la placa y el cálculo supragingival, así como posibles factores de retención de la misma que perjudican el control adecuado de la higiene bucal. El control de los factores de riesgo como fumar, control metabólico de

diabetes y el ejercicio físico, asesoramiento dietético y la pérdida de peso corporal. El control de la biopelícula dental supragingival se realiza por medio de medios mecánicos y también químicos, principalmente cepillado dental con cepillos manuales o eléctricos o bien con limpieza interdental con hilo dental, cepillos interdetales, irrigadores, palillos dentales, respecto al control químico de la placa dentobacteriana son los agentes antisépticos, como los dentífricos, y enjuagues bucales.<sup>32,33,34</sup>

Segundo paso: Tratamiento de instrumentación supra y subgingival, con y sin tratamientos complementarios. El segundo paso está relacionado con la causa, el objetivo principal es controlar, disminuir o eliminar la biopelícula subgingival y el cálculo (instrumentación subgingival)<sup>35</sup>, este paso deberá de usarse en todos los pacientes con periodontitis independientemente del estadio de la enfermedad, solo en dientes con pérdida de nivel de inserción clínica se pueden considerar las siguientes intervenciones: uso de agentes físicos o químicos coadyuvantes, uso de agentes moduladores del huésped locales o bien sistémicos complementarios, uso de antimicrobianos subgingivales administrados localmente de manera complementaria. La respuesta de cada individuo al segundo paso de tratamiento periodontal debe evaluarse una vez que los tejidos periodontales cicatricen a lo cual denominamos reevaluación periodontal.<sup>32,33,34,35</sup>

Tercer paso: Intervenciones periodontales quirúrgicas periodontales.

El tercer paso de la terapia periodontal consiste en tratar aquellas áreas dentales que no responden adecuadamente al paso dos del tratamiento periodontal, se mencionan las intervenciones que se contemplan:

1. La intervención subgingival repetida con o sin terapias complementarias.
2. Cirugía periodontal con colgajo (desbridamiento radicular quirúrgico).
3. Cirugía periodontal resectiva.
4. Cirugía periodontal regenerativa.<sup>36</sup>

Cuarto paso: Terapia de soporte periodontal de apoyo para extender los beneficios a largo plazo.<sup>32,33,37</sup>

El cuarto paso es la terapia de soporte periodontal que tiene como objetivo mantener la estabilidad periodontal en todos aquellos pacientes con tratamiento periodontal, deben combinarse tratamientos preventivos y terapéuticos establecidas como lo son el primer y segundo paso de la terapia periodontal dependiente de la condición periodontal del paciente tratado.<sup>32,33,37</sup>

## **2.1.10 Microbiología**

### **2.1.10.1 Microbioma**

El microbioma oral es dinámico y polimicrobiano por lo cual es un precursor de enfermedades orales como periodontitis y caries dental dos de las enfermedades de origen microbiano con mayor prevalencia en el mundo, los microambientes contienen comunidades microbianas que se regulan por medio de sistemas de señalización y por factores ambientales del organismo que los alberga. Las comunidades microbianas impulsan la homeostasis o disbiosis entendiéndose como salud y enfermedad.<sup>34</sup>

El contenido del genoma colectivo del microbiota o el material genético microbiano se le ha denominado microbioma, sin embargo, actualmente microbioma y microbiota se usan como sinónimos.<sup>38</sup>

### **2.1.10.2 Definición**

El microbioma se ha definido como una comunidad microbiana característica que ocupa un ambiente bien definido y que integra propiedades físico-químicas distintas. El concepto no solo se refiere a los microorganismos que intervienen sino también involucra a su teatro de actividad, lo que resulta en la formación de nichos ecológicos específicos, formando un microsistema dinámico e interactivo cambiante en el tiempo y la escala, está integrando en macro ecosistemas que incluyen huéspedes eucariotas, que son esenciales para su funcionamiento y la salud.<sup>39,40</sup>

La pérdida de la diversidad del microbioma se le ha denominado disbiosis, y a este se le ha descrito como la composición alterada de microbios favoreciendo la aparición y el brote de patógenos.<sup>39,40</sup>

### **2.1.10.3 Características**

El microbiota consiste en la ensambladura de microorganismos pertenecientes a diferentes reinos como lo son procariontes que incluyen Bacterias y arqueas, Eucariotas como lo son protozoos, Hongos y Algas, asimismo de que su “teatro actividad” incluye estructuras microbianas, metabolitos, elementos genéticos móviles por mencionar como ejemplo transposones, fagos, y virus, además de ADN reliquia incrustado en el hábitat.<sup>39</sup>

### **2.1.10.4 Definición de biopelícula**

Se ha definido la biopelícula como una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie mantenidos por medio de la secreción de una matriz adhesiva (sustancias poliméricas extracelulares) cuya función principal es la protección, es una estructura viva y dinámica, en perpetuo cambio, es el modo dominante de vida de las bacterias. Dos criterios son esenciales en la formación de biopelículas, uno de los criterios constituye una comunidad mona o generalmente polimicrobiana sobre una superficie sólida (prótesis, válvulas artificiales, catéteres), sobre de la cual se forma una estructura tridimensional (bacterias sésiles), en cuanto al criterio morfológico, tiene una matriz extracelular formada por polímeros complejos, es decir una sustancia polimérica extracelular.<sup>41,42,43</sup>

### **2.1.10.5 Características**

Una de las características de las biopelículas es el quórum sensing que se define como un tipo de comunicación entre células bacterianas basadas en la concentración de “autoinductores” estas son pequeñas moléculas moduladoras que

se generan durante el crecimiento de las bacterias cuya función principal es regular la expresión de genes. Cuando alcanzan cierto nivel de concentración los autorreguladores se unen a los receptores afines a estos, formando un complejo auto inductor-receptor, que se unen posteriormente al promotor cuyo objetivo es conducir a la regulación de genes relacionados a la virulencia bacteriana.<sup>42</sup>

En el proceso de maduración de las biopelículas, las bacterias adheridas a la superficie crean un ambiente de protección al secretar una sustancia polimérica extracelular, que impide la entrada a antibióticos a la biopelícula, la formación de canales de agua dentro de la biopelícula facilita el intercambio de nutrientes y desechos. La concentración de oxígeno baja y la nutrición dentro de la biopelícula en relación con la superficie de las células periféricas hace que las células de la periferia hacen que las células crezcan más rápido en relación a las células más internas a la biopelícula, las células que viven en la biopelícula se vuelven tolerantes y expresan más factores de virulencia.<sup>42, 44, 45</sup>

#### **2.1.10.6 Biopelícula periodontal**

Las infecciones microbianas por biopelícula dental subgingival son producidas por patógenos periodontales específicamente un grupo de especies anaeróbicas Gram negativas denominadas complejo rojo, el cual está asociado a la inflamación crónica. Estas bacterias incluyen *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola* Véase figura 3, las cuales se encuentran de manera predominante en bolsas periodontales profundas de pacientes con periodontitis. El lipopolisacárido, LPS junto con otros factores de virulencia estimula a los macrófagos y citocinas proinflamatorias que conllevan a la pérdida de tejidos periodontales.<sup>9</sup> Véase tabla 1.

## 2.1.10.7 Bacterias periodonto-patógenas

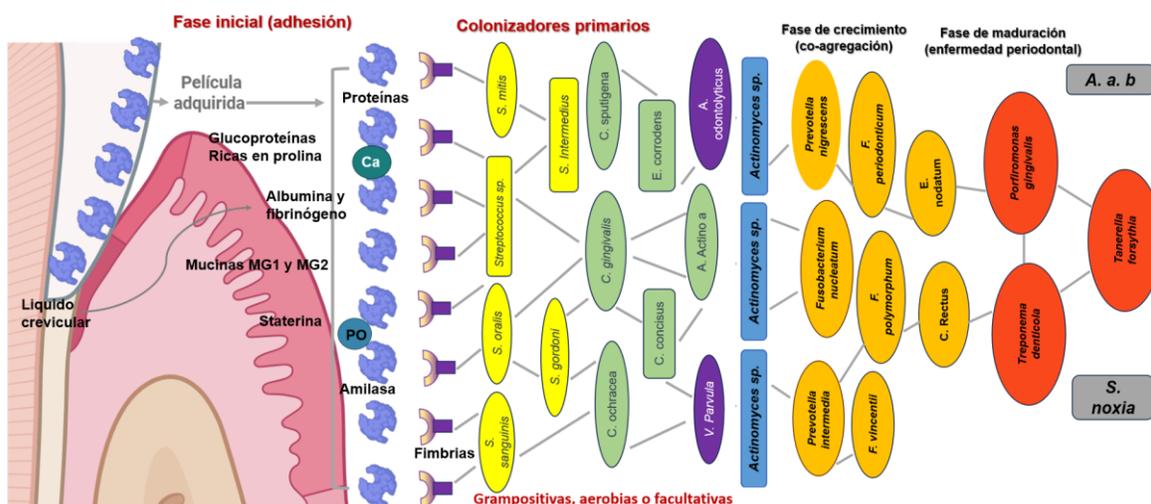


Figura 3. Formación de biopelícula y grupos microbianos de Socransky, realizada en BioRender y Power Point.<sup>49</sup>

Tabla 1. Bacterias periodontopatógenas del grupo rojo, factores de virulencia y acción a nivel celular del huésped, modificación.

Características de patógenos periodontales	Factores de virulencia	Funciones principales
<i>Porphyromon as gingivalis</i>	Cápsula	Anti fagocítico
	Fimbrias	Adhesión celular
Gram –	Proteínas de membrana externa	Contiene Lipopolisacáridos LPS, provocando respuesta pro inflamatoria del huésped y estimula a las citocinas proinflamatorias. <sup>9</sup>
No móvil		
Anaeróbico		
Pleomórfico	Gingipaínas	Probabilidad de relación con Alzheimer. <sup>9</sup>
<i>Tannerella forsythia</i>	Varias proteinasas	Degrada a las proteínas del huésped, proporcionando aminoácidos esenciales, péptidos y hemo para el desarrollo de

<p>Gram – Anaeróbico No móvil Varilla pleomórfica en forma de uso</p>		<p><i>Tannerella forsythia</i>. Degrada a los tejidos periodontales.<sup>9</sup></p> <p>Activa las enzimas que degradan las células del huésped y modifica las proteínas de la célula huésped para exponer los criptotopos a la colonización bacteriana.<sup>9</sup></p> <p>Divide los componentes del sistema inmunitario innato (citocinas, factores del complemento) y adaptativo (inmunoglobulinas) del huésped, paraliza la inmunidad del mismo.<sup>9</sup></p> <p>Componentes activos implicados en la coagulación y fibrinólisis.<sup>9</sup></p> <p>Inducen a la apoptosis celular del huésped.<sup>9</sup></p>
<p><i>Treponema denticola</i>  Gram – Anaeróbico No móvil  En forma de sacacorchos o espiral</p>	<p>Motilidad y quimiotaxis.</p> <p>Proteínas de la vaina externa (denti-lisina, proteínas principales de la vaina, lipoproteínas)</p> <p>Productos finales metabólicos</p>	<p>Facilita que la colonización de la bacteria rápidamente a nuevos sitios, penetre en bolsas periodontales profundas y en capas epiteliales, deteriorando la quimiotaxis y la fagocitosis de los neutrófilos.<sup>9</sup></p> <p>Favorece la interacción sinérgica con otros patógenos periodontales, incluidos <i>Porphyromonas gingivalis</i> y <i>Tannerella forsythia</i>.<sup>9</sup></p> <p>Facilitan la unión y recubre su superficie con proteínas solubles del huésped, impidiendo y causando retraso, así el reconocimiento del huésped.<sup>9</sup></p> <p>Favorecen a la formación y persistencia de biopelículas, citotóxicos para varias células del huésped.<sup>9</sup></p> <p>Resiste ataques ambientales (antibióticos)</p>

Sistema toxina-Antitoxina, transposasas.	Facilita la transferencia de genes de virulencia dentro de la biopelícula. <sup>9</sup>
--	---

Una de las bacterias asociadas a la periodontitis de rápida progresión es *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, un patógeno Gram negativo produce factores de virulencia que suprimen la respuesta inmunológica como exotoxinas, leucotoxinas, toxina distensora citoletal.<sup>9,45,46,47,48,49,50</sup> Véase tabla 2.

Tabla 2. Bacterias periodontopatógenas y benéficas de la cavidad oral.

Bacterias	Grupo	Factores de virulencia	Funciones principales
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> serotipo b  Gram -	Azul	Leucotoxina LtxA	Apoptosis de linfocitos.
		Toxina distensora citoletal CDT	Citotoxina CDT causa daño genético, estimulación de citocinas proinflamatorias y osteolíticas del huésped.
		Lipopolisacárido A	Molécula proinflamatoria favorece la producción de IFN- $\gamma$ y proliferación de células T humanas, Estimula a los fibroblastos para fagocitosis de colágeno, induce la producción de radicales libres. Ensanchamiento de los espacios intracelulares epiteliales. <sup>45-48,50,</sup>

		Detección de moléculas señalizadoras	de	Unión a citocinas humanas, internalización. <sup>47,48,</sup>
		Vesículas membrana externa	de	Exportación de leucotoxina. <sup>48</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum subesp. nucleatum</i>	Naranja-bacterias puente	La adhesina/invasina FadA conservada	Modula la señalización E-cadherina/ $\beta$ catenina, los que promueve cáncer colono rectal. <sup>51,52</sup>	
Comensal oral anaerobia		Adhesinas Fap2, RadD y aid1.	Permiten la interacción con otras especies microbianas bucales, de ahí su denominación como bacteria puente. (11.5) <sup>53</sup>	
		Invasión-uni3n por adhesina FadA	Se une a células endoteliales, epiteliales, fibroblastos y polimorfonucleares, lo que facilita la invasi3n en los tejidos. <sup>54</sup>	
<i>Actinomyces israelii</i>	Azul	Masa densa de cadenas ramificadas	Inhibici3n de la actividad fagoc3tica. <sup>55,56</sup>	
Anaerobia facultativa Gram +, comensal				

### 2.1.10.8 Fisiología de la periodontitis

El desarrollo de la periodontitis depende de un huésped susceptible, y de la presencia de biopelícula subgingival con patógenos periodontales, específicamente especies anaerobias gramnegativas del “complejo rojo” las cuales incluyen *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Porfiriomonas gingivalis* que producen una inflamación crónica, mismas que se encuentran en bolsas periodontales profundas.<sup>49,57,58</sup>

Los patógenos periodontales poseen un factor de virulencia denominado polisacárido que junto con otros factores de virulencia estimulan la respuesta inflamatoria, específicamente a los macrófagos del huésped además de otras células inflamatorias, esto a su vez desencadena una variedad de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$  y la interleucina (IL)-1  $\beta$  y prostaglandina E 2 (PGE 2).<sup>58,59</sup>

La presencia de citocinas proinflamatorias y de los factores de virulencia de los patógenos periodontales estimulan a los macrófagos, fibroblastos, células epiteliales y neutrófilos y estos a su vez producen metaloproteinasas, las metaloproteinasas de matriz funcionan como mediadores de la destrucción de los tejidos periodontales, debido a que tiene un papel mediador de la destrucción de las fibras de colágeno.<sup>58,59</sup>

Las citocinas proinflamatorias inducen a la expresión del receptor activador nuclear del RANKL en los osteoblastos y las células T que interactúan con el  $\kappa$ B (RANK) en las células precursoras osteoclasticas lo que da origen a nuevos osteoclastos y a su proceso de maduración, Los osteoclastos maduros son los responsables de la destrucción del hueso alveolar.<sup>58,59</sup>

La inflamación es un cambio fisiológico importante que incrementa el crecimiento de microorganismos asociados a periodontitis por medio de la destrucción de los

tejidos, liberando nutrientes como los son el colágeno degradado, aminoácidos, hemo compuestos además de hierro, estos nutrientes son transportados en fluido crevicular que es un exudado inflamatorio, dirigiendo esto al surco gingival, esto a su vez favorece el crecimiento de bacterias proteolíticas y sacro líticas subgingivales con afinidad al hierro.<sup>34</sup>

## **2.2 Antecedentes del problema**

### **2.2.1 Generalidades**

#### **2.2.2 Uso de antisépticos en periodoncia**

Los antisépticos orales tienen funciones variadas en los cuidados periodontales, en estos se incluyen los colutorios caseros, enjuagues previos a los procedimientos clínicos, cuidados posquirúrgicos e irrigación de bolsas periodontales durante el tratamiento periodontal no quirúrgico, su uso es importante para pacientes con discapacidades físicas o de desarrollo, mucositis por radiación, quimioterapia, úlceras aftosas recurrentes y candidiasis oral, los antisépticos más usados en cavidad oral son las biguanidas (clorhexidina) cuya ventaja principal es su sustantividad o bien la propiedad de unirse de manera reversible a los tejidos bucales prolongando su efecto antimicrobiano hasta por 12 horas, otros antisépticos de gran importancia son los aceites esenciales (mentol, eucalipto, timol) y los compuestos de amonio cuaternario, suelen usarse en forma de enjuague bucal, chicles, pastas, tabletas, aerosoles, barnices.<sup>59</sup> El mecanismo en el que actúan incluye en hacer permeable la membrana plasmática bacteriana, precipitar las proteínas del citoplasma, disrumpir la pared celular, inhibición de las enzimas bacterianas, la extracción de endotoxinas LPS de bacterias Gram negativas y acciones antioxidantes.<sup>59,60,61,62,63,64</sup>

### 2.2.3 Uso de extractos herbales en periodoncia

Un ensayo clínico cruzado en 50 pacientes con gingivitis inducida dividido en dos grupos, grupo uno (clorhexidina al 0.20% por 14 días) y grupo 2 (enjuague a base de hierbas dos veces al día por 14 días) Mostró que una mezcla de hierbas (*Myrtus communis*, *Punica granatum*, *Quercus brantii*, *Portulaca olerace* y *Boswellia serrata*) en enjuague bucal a base de 5 extractos mejoró la condición periodontal en la gingivitis inducida por placa después de dos semanas, comparable al efecto del enjuague bucal con clorhexidina al 0.20 % en términos de sangrado al sondeo, profundidad de bolsa al sondeo, índice gingival e índice de placa.<sup>61</sup>

No hubo diferencias significativas entre ambos enjuagues en las evaluaciones iniciales y seguimiento Índice gingival (P = 0.809); Sangrado al sondeo (P 0.292); Índice de placa (P 0.595); Profundidad de bolsa mesial (P 0,177); Profundidad de bolsa distal (P 0.114); Profundidad de bolsa en lingual (P 0.477); Profundidad de bolsa bucal (P 0.966). (16)<sup>61</sup>

Una revisión sistemática evaluó el uso de productos para el cuidado bucal a base de extractos de hierbas, en conjunto con el raspado y alisado subgingival (RAR) y el raspado supragingival (RS), pueden promover beneficios adicionales en comparación con el tratamiento periodontal único, teniendo incluso resultados comparables con la clorhexidina, esto podría ayudar a disminuir el uso de productos químicos y disminuir los efectos secundarios, de acuerdo a la literatura disponible los productos a base de hierbas (enjuague bucal y solución para irrigación ) utilizados junto con raspado y alisado radicular o raspado supragingival obtuvieron resultados clínicos superiores en comparación al uso de placebos o ningún complemento de irrigación. Los productos a base de hierbas para el cuidado bucal que contenían el 1% de *Matricaria chamomilla*, extractos de *Saussurea lappa*, *Triphala*, 4%de *Ocimum sanctum* y enjuagues multi-herbales aunados a raspado y alisado radicular demostraron resultados comparables a clorhexidina (6 estudios) o significativamente mejores (4 estudios). Los productos dentales a base de hierba de limón y el *ginseng* rojo, utilizados como tratamiento complementario de RAR obtuvieron resultados comparables a la clorhexidina y productos convencionales (4

estudios). Sin embargo, se sugiere la falta de investigaciones sobre sus efectos secundarios.<sup>65</sup>

Una revisión práctica concluyó que los materiales vegetales podrían utilizarse con excelentes resultados para el tratamiento de la periodontitis, debido al perfil de seguridad favorable además de menores efectos secundarios en comparación a los agentes como la clorhexidina. Sin embargo, es esencial realizar, las investigaciones corroboran su eficacia y seguridad a largo plazo. Múltiples estudios demuestran las ventajas de la fitoterapia como remedio de la periodontitis e indican la utilidad de la corteza de *Quercus spp.* la raíz de *Baikal*, cáscara, corteza y raíz de granada, las hojas del té, los frutos de arándano y hojas de salvia, aceite esencial de *Lippia sidoides*.<sup>66</sup>

Una revisión de estudios demostró la importancia de la utilidad de las sustancias que tienen como principio activo un extracto etanólico que se obtiene de la manzanilla *capitulum*, (*Matricaria recutita lavandula*), corteza de Roble (*Quercus spp.*), hoja de salvia (*salvia officinalis L.*), hierba de árnica (*Árnica spp.*), rizoma de cálamo (*Acorus calamus L.*), hierba de menta (*Mentha piperita L.*), hierba de tomillo (*Thymus ssp.*). Además de confirmar que el extracto líquido compuesto por siete plantas medicinales (CHE): *Capitulum* de manzanilla, hierba de árnica, hojas de salvia, corteza de roble, hierba de tomillo, hierba de menta y rizoma de cálamo.<sup>67</sup> También Dentosept (Stomatofit) A(CHEB) contiene una sustancia que tiene efecto tópico anestésico , benzocaína al 2 % además de glicerina e hidroxietilcelulosa que aumentan su adhesión a la mucosa bucal, tienen un efecto antibacteriano antiinflamatorio, inmunomodulador y astringente, además de considerarse para la prevención y tratamiento integral de la periodontitis, atención de enfermedades por virus, bacterias, hongos de la mucosa yugal , faringe, permiten acortar el tratamiento de las mismas.<sup>67</sup>

## 2.2.4 Clasificación de preparaciones medicinales a base de hierbas

Los materiales vegetales normalmente se secan, usualmente mezclas de varios tipos de materia vegetal triturada o integradas con sales y ésteres como aditivos.

68,70

Se refiere a formulaciones resumidas no refinadas o galénicas eliminan los ingredientes inactivos, contienen sustancias biológicamente activas. En estos se incluyen infusiones y decocciones de hierbas, tinturas, extractos y elixires. Las infusiones y decocciones son preparados líquidos que representan extractos de materias primas de hierbas, como lo son las soluciones acuosas de la materia herbal seca o extractos acuosos (concentrados). Las tinturas son fórmulas de extractos alcohólicos y acuosos de las hierbas medicinales producidas sin calentamiento ni eliminación del solvente que separa los ingredientes. Los extractos son extracciones concentradas de plantas medicinales en forma líquida uno a uno, semisólida menos del 25% o seca con una humedad del menos 5 %.<sup>68,70</sup>

Los elixires son formulaciones medicinales líquidas transparentes de extracciones que suelen ser alcohólicas o bien también acuosas de las plantas medicinales a las que se añaden algunos fármacos o incluso azúcares o saborizantes:

Son las denominadas formulaciones Novo-galénicas o bien fito-preparados los cuales contienen una mezcla de sustancias biológicamente activas y a su vez también libres de ingredientes inertes y adyuvantes.<sup>68,70</sup>

Ingredientes farmacéuticos activos son aquellos compuestos aislados de plantas o hierbas como lo son la serotonina, morfina, rutina, lisergina.<sup>68,70</sup>

Los fito-preparados combinados, combinan sustancias extraídas de las plantas con ingredientes generalmente sintéticos.<sup>68,70</sup>

### **2.2.5 Características generales de *Quercus spp.***

Las especies de *Quercus*, también conocidas como Roble, representan un género de gran importancia de la familia de Fagaceae, a estos se les ha atribuido un uso medicinal tradicional para tratar y prevenir diversos trastornos humanos como lo son asma, hemorroides, problemas gastrointestinales como diarreas, úlceras gástricas además de favorecer la cicatrización de heridas, se le han atribuido actividades antiinflamatorias, antibacterianas, hepato-protectoras, antidiabéticas, anticancerígenas, gastro protectoras, antioxidantes y citotóxicas, gracias a sus compuestos bioactivos como terpenos, ácidos fenólicos y flavonoides.<sup>69</sup>

Los árboles de *Quercus* se distribuyen ampliamente en los bosques de los hemisferios norte y en zonas tropicales, principalmente en el mediterráneo como Portugal, España, Argelia, Francia, Italia, Túnez y Marruecos, Asia y América del Norte tienen la mayor variedad de especies.<sup>69</sup>

### **2.2.6 Usos de *Quercus spp.* en tratamientos para humanos**

En la medicina tradicional se ha utilizado la corteza de los árboles *Quercus spp.* para tratar diversas enfermedades, debido a sus propiedades medicinales esto gracias a los compuestos fenólicos que tienen actividad antioxidante, antimicrobiana y antiinflamatoria. La corteza de *Quercus* se ha utilizado con mayor atención debido a sus múltiples usos medicinales tradicionales, el bajo costo y su importante abundancia, debido a que se obtiene del residuo de los árboles es decir la corteza.

<sup>69,71</sup>

La especie más conocida en Europa es *Quercus robur* (entiéndase Roble común), cuyo origen es Europa, Asia América del norte y generalmente se ha usado para desinflamar y para control de diarreas.<sup>69,71,72</sup>

### **2.2.7 Actividades fármaco-biológicas de *Quercus spp.***

Una revisión describió las actividades fármaco-biológicas de los compuestos

individuales de especies de *Quercus*, los cuales tienen actividad antioxidante, antibacteriana, antiinflamatoria y citotóxica.<sup>71</sup> Véase tabla 3.

**Tabla 3. Modificación de actividades fármaco-biológicas de los ingredientes individuales de *Quercus spp.*<sup>71</sup>**

<b>Compuesto</b>	<b>Usos</b>	<b>Mecanismo de acción</b>
<i>Poliatidina</i>	Trastornos dermatológicos	Potencial importante de inhibición de tirosinasa en comparación al control positivo, ácido kójico valor de C 150 de 4,05 +/-0,30 ug/ml. <sup>73</sup>
A -3,23-O-butirato de metilo Éster d glucopiranosil del ácido 2,3,19,23-tetrahidroxi-urs-12-en-28-oico B -3,23-O-butirato de metilo-2,3,19 Éster d-glucopiranosil del ácido ,23-tetrahidroxi-olean-12-en-28-oico Ácido C -23-acetoxi-2,3,19 trihidróxido-12-en-28.	Antiinflamatorio	Los compuestos A, B, C demostraron actividades antiinflamatorias importantes en comparación al control positivo la indometacina (IC50 (µM): 8,2 +/- 0,6, 12,8 +/- 0.8, 19.1 +/- 6.1 y 47.4 +/- 4.5, respectivamente, así como una gran actividad contra las citocinas proinflamatorias IL-6, IL-8. <sup>74</sup>
<i>β-Sitosterol-D-glucósido</i>	Antidiabético	Actividad moderada de inhibición de glucosidasa. <sup>73,75</sup>
<i>Tiliroside</i>	Antidiabético	Alta actividad de inhibición de la α -glucosidasa con una IC50 de 28,36 +/- 0,11 mmol/L. <sup>75,76</sup>
<i>Epicatequina</i>	Antioxidante	Elevada actividad antioxidante con concentraciones inhibitoras (IC50) de 22,55 ± 2,23 mmol/L que la quercetina. <sup>76</sup>
A - (-)-Epicatequina B -Procianidina B3 C -Procianidina B4	Antiinflamatorio	Los compuestos A, B, C mostraron actividades inhibitoras dependientes del

### 2.2.8 Farmacopea de *Quercus spp.*

Una revisión indicó que las especies de *Quercus* se han utilizado como antioxidantes, antidiabéticos, anticancerígenos, antiinflamatorios y antibacterianos, los estudios fitoquímicos actuales de esta especie de árbol del género *Quercus* demostraron la presencia de ácidos fenólicos especialmente el ácido elágico, ácido gálico y sus derivados y flavonoides particularmente el 3-Flavanol y los taninos son omnipresentes en todas las especies de roble, los compuestos fenólicos, triterpenos y flavonoides tienen un efecto positivo antiinflamatorio, antidiabéticas y anticancerígenas invitando a su consideración como candidatos prometedores para el desarrollo de nuevos agentes farmacéuticos.<sup>71</sup>

### 2.2.9 Fitoquímica de *Quercus spp.*

Un estudio analizó los perfiles de los metabolitos biológicamente activos de tres especies de árboles de *Quercus spp.* en *Quercus acutissima* se encontró que en la corteza existen cuatro ácidos fenólicos, que son ácido elágico, ácido gálico, cafeico y protocatéquico, de estos cuatro el más predominante fue el ácido elágico (13,50 mg 100 g 1DW) en segundo el ácido gálico en una proporción de (7,09 mg 100 g 1 DW) las cantidades fueron menores respecto a cafeico y protocatéquico. En la corteza de *Quercus Robur*, se determinó que existen cuatro ácidos fenólicos de 20 compuestos, ácido gálico, ácido elágico, ácido vainíllico y ácido protocatéquico, de estos el predominante fue el ácido elágico (97,82 mg 100 g PS) y una presencia menor de los otros ácidos fenólicos, además se detectó una elevada cantidad de catequina, respecto a la corteza *Quercus macrocarpa* se determinó la existencia de una cantidad muy alta de ácido cafeico (100.58 mg 100 g<sup>-1</sup> DW), además de confirmar la presencia de ácidos fenólicos en menor proporción como los son el

ácido elálgico, ácido protocatéquico, ácido gálico. Debido a la presencia de taninos la corteza del roble de *Quercus robur* posee una acción astringente y antiinflamatoria, por lo que se usa generalmente para uso externo por mencionar algunos usos como compresas como baños para enfermedades de la piel, como lo son eczemas, sabañones, sudor excesivo de sudor en los pies, también se ha usado para control de hemorroides e inflamaciones de los ojos.<sup>69</sup>

#### **2.2.10 Farmacocinética *Quercus spp.***

Un estudio en ratas administró un extracto etanólico (hidroalcohólico) de agallas de *Quercus brantii* mediante una sonda en dosis aguda y repetida, dosis aguda de 2000 mg/kg en ratas hembra las cuales fueron observadas durante 14 días, en la evaluación de la toxicidad de dosis repetida se administró el extracto (50, 500, y 1000 mg/Kg/día) por 28 días, los resultados de la evaluación de dosis aguda no produjeron mortalidad ni cambios de comportamiento en las ratas durante los 14 días de observación, en modelos repetidos de toxicidad oral, el incremento significativamente ( $P < 0,05$ ) los niveles de hemoglobina corpuscular media, hormona estimulante de la tiroides y disminuyó significativamente los niveles de triyodotironina (T3) y tiroxina (T4) en dosis de *Quercus brantii* (dosis de 50mg/kg), además de revelar lesiones microscópicas en el hígado, riñón, estómago, corazón, bazo, pulmón, útero y ovario en los grupos dosificados de 500 y 1000mg/kg.<sup>77</sup>

#### **2.2.11 Efecto antimicrobiano de *Quercus spp.***

Una investigación demostró que la corteza de *Q. acutissima*, *Q. macrocarpa*, *Q. robur*, así como el ácido elálgico y cafeico utilizando método de micro dilución exhibieron actividad antibacterial comparable a los antibióticos, dicha actividad fue mayor en los extractos de *Q. robur* en comparación con otras especies, los tres extractos exhibieron mayores actividades antibacterianas contra *Pseudomonas aeruginosa*, *M. flavus* y *E. coli*. en comparación con otras especies bacterianas, en cuanto a la concentración mínima inhibitoria los valores oscilaron en 0.04 y 0.29

mg/mL<sup>-1</sup>, mientras que la prueba de concentración bactericida mínima fue de 0.11 y 0.66 mg/mL<sup>-1</sup>. Los tres extractos exhibieron mayores actividades antibacterianas contra *Pseudomonas aeruginosa*, *M. flavus* y *E. coli*. Siendo *Quercus Robur* el que presento actividades antibacterianas más altas. *Quercus robur* concentración mínima inhibitoria y bactericida (mg/mL<sup>-1</sup>) en *E. coli*  $0.10 \pm 0.01 / 0,21 \pm 0.02$ , en *M. flavus*  $0.10 \pm 0.01 / 0.21 \pm 0.02$  en *S. aureus*  $0.23 \pm 0.02 / 0.45 \pm 0.01$ , *P. aeruginosa*  $0,05 \pm 0,01 / 0,11 \pm 0,01$  respectivamente. Los resultados para ácido elálgico y cafeico fueron comparables y superiores respecto a Los 3 extractos de *Quercus*. Ácido elálgico obtuvo resultados en *P. aeruginosa* de MIC y MIB  $0.04 \pm 0.01 / 0.10 \pm 0.01$  y *E. coli*  $0.09 \pm 0.01 / 0.19 \pm 0.03$ , en *M. flavus*  $0.09 \pm 0.01 / 0.18 \pm 0.01$  los valores de MIC y MIB en el ácido cafeico en *P. aeruginosa*  $0.06 \pm 0.01 / 0.13 \pm 0.01$ , *E. coli*  $0.11 \pm 0.01 / 0.25 \pm 0.01$ , *M flavus*  $0.13 \pm 0.01 / 0.30 \pm 0.02$ .<sup>69</sup>

Un estudio *in vitro* evaluó extractos de las agallas de *Q. infectoria* y su efecto en los factores de virulencia en *Pseudomonas aeruginosa* obtenidas de heridas por quemaduras, como resultado informaron que estos combaten infecciones debido a sus componentes, gracias a la alteración del sistema de detección del quórum del patógeno *P. aeruginosa* mediante el debilitamiento de la virulencia y coordinación bacteriana, ya que los niveles de expresión de los genes *rhl* y exotoxina A (ETA), se redujeron gracias a los extractos de las concentraciones sub inhibitorias de *Q. infectoria* dicho extracto de *Quercus* regula negativamente la expresión de los genes por lo cual se sugiere su uso valioso como profiláctico y terapéutico, sobre todo en microorganismos resistentes a antibióticos, uno de los primeros estudios en informar de que los extractos de *Q. infectoria* afectan a *P. aeruginosa* con mecanismos duales que implican el efecto inhibitorio directo del crecimiento y la reducción de la expresión de algunos genes reguladores de la virulencia bacteriana por ende inhibición de la formación de biopelícula. Los resultados fueron: la resistencia a todos los antibióticos excepto a amikacina y ciprofloxacino. La concentración mínima inhibitoria, Q-1 5 mg/ml, Q-2 10mg/ml, Q3 2.5mg/ml, Q4 20 mg/ml. Concentración mínima bactericida Q-1 10mg/ml, Q-2 20mg/ml, Q3 4 mg/ml, Q-4 25mg/ml. La inhibición de biopelícula tuvo una reducción notable principalmente en

Q-3 y Q-4. Resultados de RT-PCR revelaron que los niveles de la expresión de rhl y exotoxina A (ETA), incluida la virulencia se redujo con la exposición a extractos de Qi.<sup>78</sup>

Un estudio *in vitro* evaluó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de agallas de *Quercus infectoria* sobre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* los resultados de la investigación fueron: Diámetros de áreas de inhibición de *A. a.* en placas con extracto Qi midieron 10.33,12.83,16.83mm para concentraciones de 2.5,5,10mg/ml respectivamente. Para CHX al 0.2% fue de 17.13mm y para doxiciclina 13.13mm. La concentración mínima inhibitoria y bactericida fue para el extracto de Qi de 2.5 y 5mg/ml respectivamente, para clorhexidina 0.0039 y 0.0078 respectivamente, las comparaciones por pares de los valores del diámetro de la zona de inhibición revelaron valores comparables entre todos los grupos del extracto y clorhexidina al 0.20%, excepto para concentraciones de 2.5 y 5 mg/ml del extracto.<sup>79</sup>

Una investigación *in vitro* evaluó un gel muco adhesivo de *Quercus brantii* L. y *coriandrum sativum* L, para la administración periodontal. (Gel F) se realizó una evaluación antibacteriana de los halos de inhibición de *P. gingivalis* y los resultados de las zonas de inhibición en el cultivo de *P. gingivalis* fueron del gel F517.23 ± 0.2 mm y para tetraciclina 20mm.<sup>80</sup>

Una investigación sobre la composición química, actividad antibacteriana y mecanismo relacionado de *Valonia* y cáscara de *Quercus variabilis* Blume (Fragaceae) contra *Salmonella paratyphi A* y *Staphylococcus aureus* los resultados indicaron que *Valonia* y *Quercus* son bioactivos para las siguientes cepas, para las cepas *S. aureus*, *Valonia* 10.89 ± 0. 12<sup>a</sup> cáscara 8.99 ± 0. 22<sup>a</sup> *Púnica granatum* 10.22 ± 0.18a cloranfenicol 24.83 ± 0. 61<sup>a</sup> y para *S. paratyphi A* para valonia 12.37 ± 0. 36<sup>a</sup> cáscara 9.62 ± 0. 16a *Púnica granatum* 10.30 ± 0. 21<sup>a</sup> y para cloranfenicol 29.96 ± 0.01<sup>a</sup>. Los valores de la concentración mínima inhibitoria de la fracción de n-butanol y los extractos de *valonia* vs *S. paratyphi A* y *S. aureus* fueron 1.25 mg/ml y 0.625 mg/ml.<sup>81</sup> Véase resumen de tabla 4.

**Tabla 4. Resumen de ensayos sobre los efectos antimicrobianos de extractos o geles en cepas bacterianas.**

Estudio	Metodología	Grupo control	Grupo de estudio	Resultado
<p>Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de agallas de <i>Quercus infectoria</i> sobre <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>.</p> <p>Estudio <i>in vitro</i> (se repitió 3 veces)</p> <p>Año 2023</p>	<p>Extracto hidroalcohólico de agallas de <i>Quercus infectoria</i>. Difusión en pozo de agar y microdilución en caldo para evaluación antimicrobiana de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i></p>	<p>Control positivo Difusión en pozo agar evaluación a las 24 horas (20 µl de clorhexidina al 0.2 % y 20 µl de solución de doxiciclina (12.5 mg/ml).</p> <p>Microdilución en caldo 100 µl de solución de CHX al 0.2 % y 100 µl de solución de doxiciclina de 0,512 mg/ml</p>	<p>Extracto de <i>Q.i.</i> 20 µL, en diferente concentración: 0.08, 0.15, 0.3, 0.625, 1.25, 2.5, 5 y 10 mg/mL.</p> <p>100 µl de la solución de 20 mg/ml de <i>Qi</i></p>	<p>Diámetros de áreas de inhibición de <i>A.a.</i> en placas con extracto <i>Q.i.</i> midieron 10.33,12.83,16.83mm para concentraciones de 2.5,5,10mg/ml respectivamente. Para CHX al 0.2% fue de 17.13mm y para doxiciclina 13.13mm. La concentración mínima inhibitoria y bactericida fue para el extracto de <i>Qi</i> de 2.5 y 2.5mg/ml fue significativamente inferior a clorhexidina 0.0039 y 0.0078 respectivamente.<sup>79</sup></p>
<p>Los extractos de agallas de <i>Quercus infectoria</i> reducen la producción de factores</p>	<p>Polvo de agallas de <i>Quercus infectoria</i>, disueltos</p>	<p>Control positivo de (Amikacina, Ceftazidima, Cloranfenicol, Ciprofloxacina,</p>	<p>Extracto de <i>Q. infectoria</i> más disolventes. (Cultivos de <i>P. aeruginosa</i>)</p>	<p>Resistencia a todos los antibióticos excepto a amikacina y ciprofloxacino. Concentración mínima inhibitoria Q-1 5mg/ml, Q-2 10mg/ml, Q3</p>

<p>virulencia controlados por la detección de quórum sensing.</p>	<p>acetato de etilo, n-butanol, etanol y agua, antes de usar se disolvieron en se disolvieron en dimetilsulfóxido al 10%. Cultivos <i>P. aeruginosa</i> de quemaduras. Análisis de inhibición de biopelículas Reacción en cadena de la polimerasa (transcripción inversa) RT-PCR en tiempo real para monitorear la expresión de los genes indicadores lasI, lasR, rhII y rhIR</p>	<p>Doxiciclina, Meropenem, netilmicina Tobramicina)</p>	<p>y Q-1 Acetato de etilo Q-2 n-Butanol, Q-3 Etanol, Q-4 Extracto acuoso</p>	<p>2.5mg7ml, Q4 20mg/ml. Concentración mínima bactericida Q-1 10mg/ml, Q-2 20mg/ml, Q3 4 mg/ml, Q-4 25mg/ml. Inhibición de biopelícula: reducción notable principalmente en Q-3 y Q-4. Resultados de RT-PCR revelaron que los niveles de la expresión de rhI y exotoxina A (ETA), incluida la virulencia se redujo con la exposición a extractos de <i>Q.i.</i><sup>78</sup></p>
---	---	---	--	--

<p>Perfil de polifenoles y potencial farmacéutico de <i>Quercus</i>. Ensayo de bioactividad Año 2019</p>	<p>Evaluación de los perfiles de polifenoles mediante HPLC-DAD (cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos) en extractos de <i>Quercus robur</i>, <i>Q. macrocarpa</i> y <i>Q. acutissima</i>. Evaluación de actividades antibacterianas contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Micrococcus flavus</i> y <i>Escherichia coli</i>. <i>Bacillus cereus</i> <i>Listeria monocytogenes</i></p>	<p>Ácido elágico Ácido cafeico Estreptomina</p>	<p>Extractos de <i>Quercus robur</i>, <i>Q. macrocarpa</i> y <i>Q. acutissima</i></p> <p>Cepas bacterianas <i>Micrococcus flavus</i> y <i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Los tres extractos exhibieron mayores actividades antibacterianas contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>M. flavus</i> y <i>E. coli</i>. Siendo <i>Quercus robur</i> el que presentó actividades antibacterianas más altas. <i>Quercus robur</i> concentración mínima inhibitoria y bactericida (mg/mL<sup>-1</sup>) en <i>E. coli</i> 0.10 ± 0.01 / 0.21 ± 0.02, en <i>M. flavus</i> 0.10 ± 0.01 / 0.21 ± 0.02 en <i>S aureus</i> 0.23 ± 0.02 / 0.45 ± 0.01, <i>P. aeruginosa</i> 0,05 ± 0,01 / 0,11 ± 0,01 respectivamente. Los resultados para ácido elágico y cafeico fueron comparables y superiores respecto a Los 3 extractos de <i>Quercus</i>. Ácido elágico obtuvo resultados en <i>P. aeruginosa</i> de MIC y MIB 0.04 ± 0.01 / 0.10 ± 0.01 y <i>E. coli</i> 0.09 ± 0.01 / 0.19 ± 0.03, en <i>M. flavus</i> 0.09 ± 0.01 / 0.18 ± 0.01 los valores de MIC y MIB en el ácido cafeico en <i>P. aeruginosa</i> 0.06 ± 0.01 / 0.13 ± 0.01, <i>E. coli</i> 0.11 ± 0.01 / 0.25 ± 0.01, <i>M. flavus</i> 0.13 ± 0.01 / 0.30 ± 0.02.<sup>69</sup></p>
--	--	---	---	--

*Staphylococcus aureus*

Estudio	Metodología	Grupo control	Grupo de estudio	Resultado
Composición química, actividad antibacteriana y mecanismo relacionado de <i>Valonia</i> y cáscara de <i>Quercus variabilis</i> Blume (Fragaceae) contra <i>Salmonella paratyphi</i> A y <i>Staphylococcus aureus</i> . In vitro Año 2019	Extracto de <i>Valonia</i> y cáscara de <i>Quercus variabilis</i> Blume, se procesó la cáscara de <i>Q. variabilis</i> (500 g) de acuerdo con el paso anterior y se obtuvieron el extracto crudo en etanol (6.00 g), extractos de éter de petróleo (0,52 g), extractos de acetato de etilo (0.42 g), n- Se obtuvieron extractos de butanol (4.07	<i>Púnica granatum</i> y ácido eláxico control negativo  Cloranfenicol	Extracto de <i>Valonia</i> y cáscara de <i>Quercus variabilis blume</i> .	Los resultados indicaron que <i>Valonia</i> y <i>Quercus</i> son bioactivos para las siguientes cepas, para las cepas <i>S. aureus</i> <i>Valonia</i> 10.8.9 ± 0. 12 <sup>a</sup> cáscara 8.99 ± 0. 22 <sup>a</sup> <i>Púnica granatum</i> 10.22 ± 0.18a cloranfenicol 24.83 ± 0. 61 <sup>a</sup> y para <i>S. paratyphi</i> A para <i>Valonia</i> 12.37 ± 0. 36 <sup>a</sup> cáscara 9.62 ± 0. 16a <i>Púnica granatum</i> 10.30 ± 0. 21 <sup>a</sup> y para cloranfenicol 29.96 ± 0.01 <sup>a</sup> . Los valores de la concentración mínima inhibitoria de la fracción de n-butanol y los extractos de valonia vs <i>S. paratyphi</i> A y <i>S. aureus</i> fueron 1.25 mg/ml y 0.625 mg/ml. <sup>81</sup>

g) y extractos  
de agua (3.97  
g)  
Cepas  
evaluadas  
*Salmonella*  
*paratyphi* A  
(*S. paratyphi*  
A) y  
*Staphylococcc*  
*us aureus* (*S.*  
*aureus*)  
*Salmonella.*  
*typhimurium*  
*Salmonella.*  
*enteritidis*  
*Listeria*  
*monocytogen*  
*es.*

### 2.2.12 Efecto antiinflamatorio de *Quercus spp.*

Un estudio en ratas evaluó los efectos antioxidantes y antiinflamatorios del extracto de *Quercus brantii* sobre la colitis ulcerosa inducida por ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico (TNBS) en ratas, se estudiaron 70 ratas machos Wistar 7 grupos de 10 ratas, El tratamiento de las ratas con QB disminuyó el daño microscópico y macroscópico, además de disminuir la actividad de TNF-  $\alpha$ , IL-6, NO (óxido nítrico), MPO y MDA. Los resultados en cuanto a la evaluación de mediadores de inflamación: Las ratas control con (TNBS) sin tratamiento tuvieron niveles séricos más altos de TNF- $\alpha$  en comparación al grupo simulado ( $75 \pm 6.03$  vs.  $44 \pm 5.66$  pg./ml, respectivamente,  $P < 0,0001$ ). En el tratamiento de las ratas con QB disminuyó el daño microscópico y macroscópico, además de disminuir la actividad de TNF-  $\alpha$ , IL-6, NO (óxido nítrico), MPO y MDA.<sup>82</sup>

Evaluación de mediadores de inflamación.

Las ratas control con (TNBS) sin tratamiento tuvieron niveles séricos más altos de TNF- $\alpha$  en comparación al grupo simulado ( $75 \pm 6.03$  vs.  $44 \pm 5.66$  pg./ml, respectivamente,  $P < 0,0001$ ). No se observaron diferencias significativas entre las ratas tratadas respecto a NO, IL-6, TNF-  $\alpha$  con 400 mg /kg de QB y el grupo tratado con sulfasalazina ( $P < 0.173$ ).<sup>82</sup>

El biomarcador de inflamación aguda de MPO (mieloperoxidasa), los grupos tratados con QB tuvieron un menor efecto inhibitor sobre MPO en comparación con la sulfasalazina como control positivo ( $P < 0.0001$ ).<sup>82</sup>

Los grupos tratados con sulfasalazina y extracto de QB 400 mg/kg, por vía rectal no tuvieron diferencia significativa entre la disminución de MDA (malondialdehído) ( $P < 0.5181$ ). Se observaron diferencias significativas entre las ratas tratadas respecto a NO, IL-6, TNF-  $\alpha$  con 400 mg /kg de QB y el grupo tratado con sulfasalazina ( $P < 0.173$ ).<sup>82</sup>

Biomarcador de inflamación aguda de MPO (mieloperoxidasa), los grupos tratados con QB tuvieron un menor efecto inhibitor sobre MPO en comparación con la

sulfasalazina como control positivo ( $P < 0.0001$ ) Los grupos tratados con sulfasalazina y extracto de QB 400 mg/kg, por vía rectal no tuvieron diferencia significativa entre la disminución de MDA (malondialdehído) ( $P < 0.5181$ ).<sup>82</sup>

Un estudio Exploró el potencial antiinflamatorio agudo y crónico de extractos de *Quercus leucotrichophora* A. Camus en ratas Wistar fue realizada en ratas Antiinflamatorio *in vivo* e *in vitro*. Los resultados de análisis agudo 2000 mg/kg de QLME, no se observaron cambios fisiológicos ni de comportamiento, ni muertes en los 14 días posteriores. La carregenina aumentó considerablemente el edema de la pata de las ratas ( $p < 0,0001$ ). efecto de QLME en el edema de la pata de la rata. El porcentaje máximo de inhibición lo presentó QLME (29.03%) a 600 mg/kg, fue mayor que piroxicam y otros grupos. Edema en oído en ratas inducido por xileno el cual redujo significativamente con QLME de 300 y 600 mg/kg. Diámetro de las patas de ratas artríticas, el % máximo de inhibición lo presento el metrotexato (50.02%) segundo de las ratas tratadas con 600mg/Kg/día (48.34%) en el día 28. El % máximo de inhibición lo presentó MTX (50,02 %) seguido de ratas tratadas con QLME 600 mg/kg/día (48,34 %) el día 28. Cuantificación de biomarcadores por PCR en tiempo real, en sangre de ratas. Las expresiones de los genes de IL-6, IL-1 $\beta$ , NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  y COX-2 redujeron significativamente con QLME de 600 mg/kg (NF- $\kappa$ B:  $1.71 \pm 0.20$ , COX-2:  $1.72 \pm 0.19$ , IL- 6:  $1.66 \pm 0.09$ , TNF- $\alpha$ :  $1.62 \pm 0.29$ , e IL-1 $\beta$ :  $1.67 \pm 0.20$  veces el cambio) y Metrotexato (NF- $\kappa$ B:  $1.48 \pm 0.15$ ; COX-2:  $1.45 \pm 0.06$ , IL-6:  $1.52 \pm 0.09$ , TNF- $\alpha$ :  $1.34 \pm 0.14$ , e IL-1 $\beta$ :  $1.47 \pm 0.12$  veces).<sup>83</sup>

Una investigación en ratas estudio los efectos de los extractos etanólicos de *Quercus brantii*, *Cirsium vulgare* y *Falcaria vulgaris* sobre úlcera gástrica índices anti oxidantes e inflamatorios y la expresión genética en ratas y obtuvieron como resultado: Disminución de la expresión de los genes que aumentan ante la presencia de úlcera gástrica, C-fos, C – myc, Caspasa-9 y Bcl en los grupos tratados con extractos, siendo el extracto de QB que mostró mejores resultados, incluso mejor que el omeprazol. Los resultados de inhibición de úlceras de los extractos hidroalcohólicos de *Falcaria vulgaris*, *Quercus brantii* y *Cirsium vulgare* fue de

75.80%, 79.03% y 3.22 %. Factores inflamatorios: Los niveles de albúmina sérica aumentaron en el grupo control negativo y de tratamiento especialmente en *Quercus brantii*. El nivel de proteína total en suero, Haptoglobina, globulina aumentaron en comparación al grupo control, los resultados en cuanto a globulina fue mejor en *Cirsium vulgare*.<sup>84</sup> Véase resumen de tabla 5.

**Tabla 5. Resumen de estudios Actividad antiinflamatoria de la intervención de extractos de *Quercus spp.***

Estudio	Metodología	Grupo control	Grupo de estudio	Resultado
Efectos antioxidantes y antiinflamatorios del extracto de <i>Quercus brandi</i> sobre la colitis ulcerosa inducida por ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico (TNBS) en ratas. In vitro Año 2021	70 ratas machos Wistar 7 grupos de 10. G1 sulfasalazina vía oral G2 control negativo (TNBS) G3 200 mg/Kg extracto de <i>Quercus brandi</i> QB. G4 400 mg/Kg vía oral. G5 200 mg/Kg gel de QB vía rectal. G6 400 mg/Kg de QB gel vía rectal G7 500mg/Kg de sulfasalazina vía oral. Evaluación de cambios macroscópicos e histológicos de colon. Biomarcadores de inflamación MPO y MDA (estrés oxidativo)	Control positivo G1 sulfasalazina vía oral. G2 control negativo (TNBS)	Ratas con colitis ulcerosa inducida por (TNBS)	El tratamiento de las ratas con QB disminuyó el daño microscópico y macroscópico, además de disminuir la actividad de TNF- $\alpha$ , IL-6, NO (óxido nítrico), MPO y MDA Evaluación de mediadores de inflamación. Las ratas control con (TNBS) sin tratamiento tuvieron niveles séricos más altos de TNF- $\alpha$ en comparación al grupo simulado ( $75 \pm 6.03$ vs. $44 \pm 5.66$ pg./ml, respectivamente, $P < 0,0001$ ). No se observaron diferencias significativas entre las ratas tratadas respecto a NO, IL-6, TNF- $\alpha$ con 400 mg/kg de QB y el grupo tratado con sulfasalazina ( $P < 0.173$ ). Biomarcador de inflamación aguda de MPO (mieloperoxidasa), los grupos tratados con QB tuvieron un menor efecto inhibitor sobre MPO en comparación con la sulfasalazina como control positivo ( $P < 0.0001$ ) Los grupos tratados con sulfasalazina y extracto de QB 400 mg/kg, por vía rectal no tuvieron diferencia significativa entre la disminución de MDA (malondialdehído) ( $P < 0.5181$ ). <sup>82</sup>

<p>Exploración del potencial antiinflamatorio agudo y crónico de extractos de <i>Quercus leucotricoflora</i> A. Camus en ratas Wistar: una visión mecanicista.</p> <p>En ratas In vitro Antiinflamatorio in vivo Año 2023</p>	<p>Extractos de <i>Q. leucotricoflora</i> A. <i>Q. I.</i> extracto metanólico</p> <p>54 ratas wistar en 6 grupos 6 ratas cada una</p> <p>Actividad antiinflamatoria (inhibición de la desnaturalización de proteínas y estabilización de membrana) in vitro, antiinflamatorio in vivo (edema inducido por carragenina y Xileno) y modelos antiartríticos. Determinación del potencial antiartrítico se inoculó =0.1 ml de adyuvante de Freud (CFA) en la pata trasera izquierda de rata wistar, se administró el extracto</p>	<p>Grupo I agua destilada 1ml, Grupo II control de enfermedad agua destilada 1 mm, Grupo III metotrexato 1 mg/kg por semana, Grupo IV, V, VI QLME 150, 300, 600 mg/kg; 1 mililitro respectivamente. Piroxicam</p>	<p>Extractos de <i>Q. leuco trichophora</i> A. Actividad antiinflamatoria Actividad anti artrítica</p>	<p>Resultados de análisis agudo 2000 mg/kg de QL ME, no se observaron cambios fisiológicos ni de comportamiento, ni muertes en los 14 días posteriores.</p> <p>La carragenina aumentó considerablemente el edema de la pata de las ratas (<math>p &lt; 0,0001</math>). efecto de <i>Q. I.</i> en el edema de la pata de la rata</p> <p>El porcentaje máximo de inhibición lo presentó <i>Q. I.</i> (29.03%) a 600 mg/kg, fue mayor que piroxicam y otros grupos.</p> <p>Edema en oído en ratas inducido por xileno el cual redujo significativamente con <i>Q. I.</i> de 300 y 600 mg/kg.</p> <p>Diámetro de las patas de ratas artríticas, el % máximo de inhibición lo presentó el metotrexato (50.02%) segundo de las ratas tratadas con 600 mg/Kg/día (48.34%) en el día 28.</p> <p>El % máximo de inhibición lo presentó metotrexato (50,02 %) seguido de ratas tratadas con <i>Q. I.</i> 600 mg/kg/día (48,34 %) el día 28</p> <p>Cuantificación de biomarcadores por PCR en tiempo real, en sangre de ratas.</p> <p>las expresiones de los genes de IL-6, IL-1<math>\beta</math>, NF-<math>\kappa</math>B, TNF-<math>\alpha</math> y COX-2</p>
---	---	---	--	---

<p>Efectos de los extractos etanólicos de <i>Quercus brantii</i>, <i>Cirsium vulgare</i> y <i>Falcaria vulgaris</i> sobre úlcera gástrica índices anti oxidantes e inflamatorios y la expresión genética en ratas. In vitro Año 2021</p>	<p>metanólico QL (QL ME) a 150, 300 y 600 del día 8 al día 28, analizados por 7, 12, 16, 20, 24 y 28 días. El edema inducido por carragenina fue en 0, 1, 2, 3 y 4 h hasta la octava hora.</p> <p>Treinta ratas Sprague Dawley de 200-250g, seis grupos, grupo I, II, III 500 mg/kg de extracto de <i>Quercus</i>, <i>Cirsium vulgare</i> y <i>Falcaria vulgaris</i> respectivamente. PCR-RT</p>	<p>Grupo control animales intactos, Grupo simulado: agua destilada por 14 días. Control negativo: Omeprazol 14 días,</p>	<p>redujeron significativamente con QL ME de 600 mg/kg (NF-kB: <math>1.71 \pm 0.20</math>, COX-2: <math>1.72 \pm 0.19</math>, IL-6: <math>1.66 \pm 0.09</math>, TNF-<math>\alpha</math>: <math>1.62 \pm 0.29</math>, e IL-1<math>\beta</math>: <math>1.67 \pm 0.20</math> veces el cambio) y Metotrexato (NF-kB: <math>1.48 \pm 0.15</math>; COX-2: <math>1.45 \pm 0.06</math>, IL -6: <math>1.52 \pm 0.09</math>, TNF-<math>\alpha</math>: <math>1.34 \pm 0.14</math>, e IL-1<math>\beta</math>: <math>1.47 \pm 0.12</math> veces).<sup>83</sup></p> <p>Los extractos hidro alcohólicos demostraron cambios notables en la expresión de los genes caspasa - 9, C - myc, C - fos y Bcl - 2 en ratas. Disminución de la expresión de los genes que aumentan ante la presencia de úlcera gástrica, C-fos, C - myc, Caspasa-9 y Bcl en los grupos tratados con extractos, siendo el extracto de QB que mostró mejores resultados, incluso mejor que el omeprazol.</p> <p>Los resultados de inhibición de úlceras de los extractos hidroalcohólicos de <i>Falcaria vulgaris</i>, <i>Quercus brantii</i> y <i>Cirsium vulgare</i> fue de 75.80%, 79.03% y 3.22 %.</p> <p>Factores inflamatorios: Los niveles de albúmina sérica aumentaron en el grupo control negativo y de tratamiento especialmente en <i>Quercus brantii</i>. El nivel de proteína</p>
--	--	--	---

total en suero, Haptoglobina, globulina aumentaron en comparación al grupo control, los resultados en cuanto a globulina fue mejor en *Cirsium vulgare*.<sup>84</sup>

### **2.2.13 Efecto antioxidante de *Quercus spp.***

Un estudio evaluó el efecto antimicrobiano, antifúngico y antioxidante de tres especies de *Q. acutissima*, *Q. macrocarpa*, *Q. robur*, así como el ácido elágico y cafeico. *Q. robur* mostró actividades antioxidantes significativamente mayores mediante la actividad eliminadora de radicales libres (IC 50, 3,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) blanqueamiento con  $\beta$ -caroteno linoleico (IC 50, 3,3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), FRAP (IC 50, 3,8 mm TEAC g<sup>-1</sup> extracto) en comparación con las otras especies, *Q. robur* presentó actividades antioxidantes comparables a los antioxidantes estándar hidroxitolueno butilado (BHT), la actividad antioxidante de los ácidos elágico y cafeico fueron comparables a la de *Q. robur*, y *Q. macrocarpa*.<sup>69</sup>

### **2.2.14 Efecto anticancerígeno del ácido elágico obtenido de *Quercus spp.***

Un ensayo obtuvo el análisis de los extractos de la corteza de tres *Quercus spp.* para determinar propiedad anticancerígena contra diferentes líneas celulares cancerosas MCF-7, HeLa, Jurkat y HT-29 se determinó que la actividad mayor anticancerígena se encontró en los extractos de *Q. robur* en comparación al extracto de las cortezas de *macrocarpa* y *Q. acutissima*, *Q. robur* tuvo efecto anticancerígeno en T24, el ácido cafeico y el ácido elágico tuvieron efecto comparable con *Q. robur* y *Q. macrocarpa*.<sup>69</sup>

### **2.2.15 Efecto del uso de *Quercus spp.* a nivel óseo**

Una investigación realizó estudios *in vitro* sobre los efectos del extracto de agallas de *Quercus infectoria* respecto a sus acción sobre la proliferación, la fosfatasa alcalina, osteocalcina y la morfología de la línea celular de osteoblastos fetales humanos (hFOB 1.19), las células fueron expuestas a concentraciones de *Quercus infectoria* (0,1 a 99,0  $\mu\text{g/ml}$ ) en una temporalidad de 72 hora, los niveles de fosfatasa alcalina y osteocalcina se midieron durante los días 1,3,7,10 y 14 se compararon con el grupo control negativo y pamidronato, lo resultados indicaron que la concentración efectiva de HFOB1,19 tratado

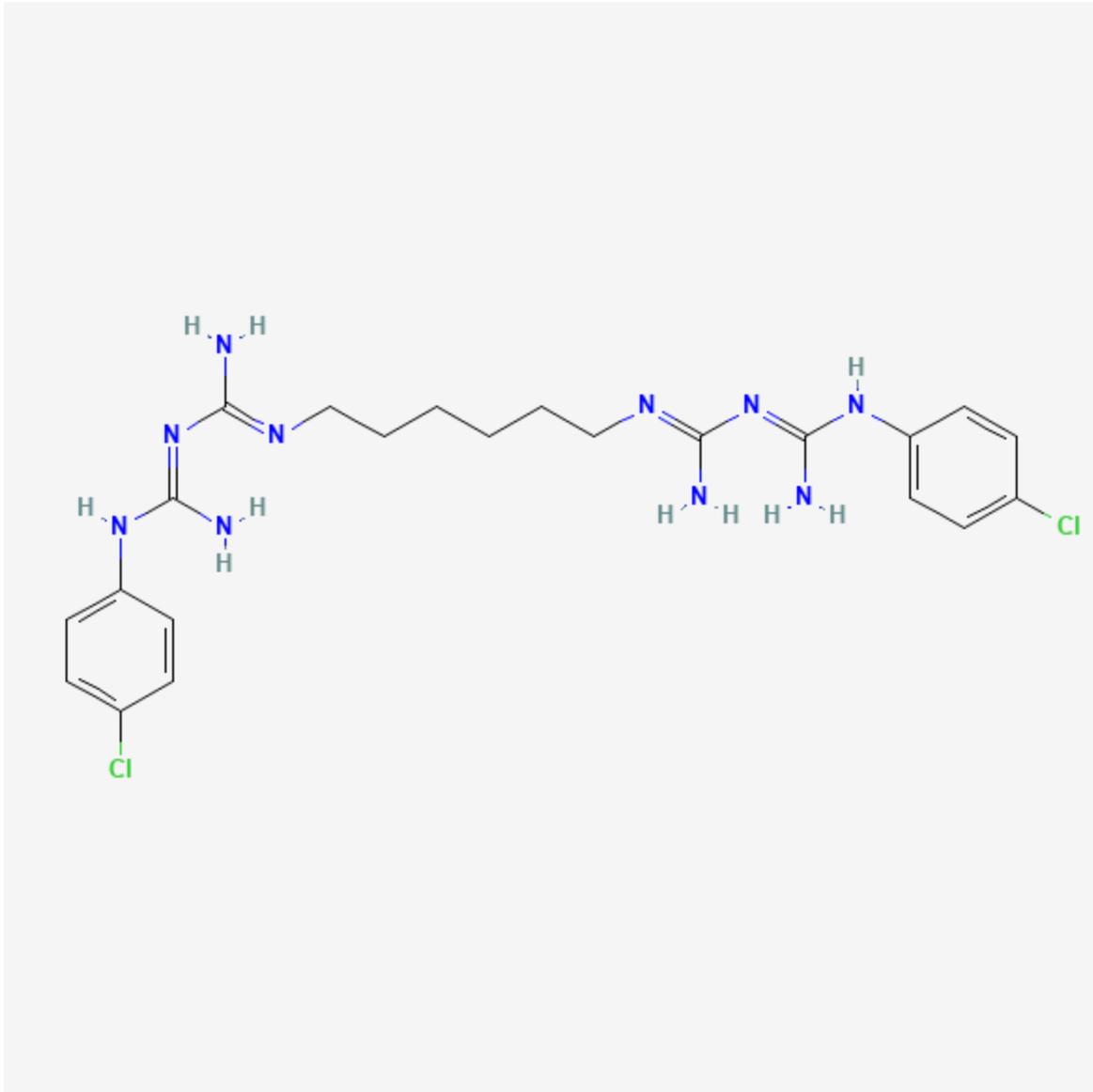
con QI fue de 10,30  $\mu\text{g/ml}$  siendo más efectiva que el pamidronato (CE 50 a 16,09  $\mu\text{g/ml}$ ). Los niveles de la fosfatasa alcalina y osteocalcina de (hFOB 1.19) expuestos a *Quercus infectoria* desde el séptimo día hasta el día 14 aumentaron significativamente y fueron significativamente mayores que los dos grupos controles, en cuanto a la morfología celular fue uniformemente alargada, mayor número y muy confluyente.<sup>85</sup>

### **2.2.16 Clorhexidina generalidades**

El digluconato de clorhexidina se reconoce como un compuesto organoclorado con actividad antibacteriana, funcionalmente asociado a la desinfección de piel y mucosas. La clorhexidina es una molécula bisguanida catiónica que consta de dos anillos de 4-clorofenilo y dos grupos de biguanida unidos por una cadena central de hexametileno; creada en Reino Unido en los años 50s, es un antimicrobiano de amplio espectro contra patógenos bacterianos tanto Gram – como Gram +, siendo más eficaz en los últimos, así como también levaduras y virus, es decir es un antiséptico usado principalmente en la piel, mucosas y para las infecciones de la cavidad bucal y encías.<sup>86,87,88</sup>

La clorhexidina tiene cargas positivas a pH fisiológico y reacciona con las bacterias a nivel de la superficie de la membrana celular cargada negativamente por medio de una unión no específica a los fosfolípidos de la misma, creando un cambio importante en el equilibrio osmótico y generando la pérdida de fósforo y potasio, de tal forma que cuando penetra la clorhexidina, precipita el contenido citoplasmático, produce la lisis y apoptosis.<sup>86,87</sup> Véase figura 4.

Figura 4. Estructura química de la clorhexidina.<sup>86</sup>



La clorhexidina forma cristales sólidos. En los Estados Unidos el di acetato de clorhexidina está registrado para su uso como pesticida y es sumamente tóxico, en la concentración al 2% está registrado como un desinfectante de superficies.<sup>87,88,89</sup>

### 2.2.17 Efecto citotóxico del gluconato de Clorhexidina

Se ha identificado que el gluconato de clorhexidina disminuye la actividad fibroblástica para el cierre de heridas además de presentar, efectos secundarios como alteración del gusto y descamación de las células de la mucosa yugal.<sup>87,89</sup>

Se debe considerar que el uso *in vitro* de clorhexidina al 0.2% detiene la migración de las células en bloque, además de reducir de manera considerable la vida de los fibroblastos, mioblastos y osteoblastos.<sup>88,90,91</sup>

Un estudio *in vitro* analizó el contenido de Adenosín Trifosfato ATP, en líneas celulares fibroblásticas dérmicas humanas, demostrando que la clorhexidina induce a una disminución de ATP sumamente significativa en concentraciones superiores a 0.001% en comparación a los controles sin tratamiento, a las 24 horas de exposición a la clorhexidina, los fibroblastos disminuyeron la concentración de ATP de 1.25, hasta 2 veces en comparación con las exposiciones menores de 3, 6 y 8 horas.

Las concentraciones de mayores a 0.02% perdieron completamente su ATP, el estudio concluyó que la clorhexidina ejerció un efecto inhibitor dosis dependiente de la concentración sobre la síntesis de ADN incluso en concentraciones bajas al 0.0001%.<sup>87</sup>

Un estudio *in vitro* en cultivos celulares de tipo odontoblasto (MDPC-23), evaluó el metabolismo celular y la concentración de proteína total, a través de la exposición de los cultivos celulares con concentraciones de clorhexidina 0.06, 0.12, 0.2, 1 y 2%, durante 60 segundos, 2 horas y 60 segundos con 24 horas de recuperación, los controles fueron el medio de cultivo puro y el peróxido de hidrógeno al 3% como controles positivo y negativo. Se concluyó que la clorhexidina tiene un efecto tóxico en las células MDPC-23 dosis dependiente y que a mayor tiempo de exposición y mayor concentración incrementa significativamente es el efecto citotóxico celular.<sup>92</sup>

Un estudio *in vitro* concluyó que las concentraciones clorhexidina usadas al 2%, ejercieron un efecto citotóxico sobre osteoblastos, fibroblastos y mioblastos, se identificó la disminución de la supervivencia celular y detención de la migración celular incluso en

las concentraciones más bajas al 0.002%, el efecto citotóxico celular es elevado incluso en concentraciones inferiores a las usadas clínicamente.<sup>90</sup>

Una revisión sistemática de 20 años, en la que se incluyeron 14 estudios *in vitro*, en los cuales se evaluó el potencial antimicrobiano y la citotoxicidad de la clorhexidina sola o con otros compuestos, concluyó que el efecto citotóxico *in vitro* se observó en concentraciones del 0.001%, además de recomendar el uso clínico controlado y prudente de su uso en los pacientes.<sup>93</sup>

### 2.2.18 *Quercus crassifolia* Bonpl. generalidades y sus Características

*Quercus crassifolia* es una planta que se distribuye ampliamente a lo largo de la Sierra Madre Oriental hasta el centro de México, a largo del eje Neovolcánico hasta llegar a Guatemala.<sup>94</sup>

*Quercus crassifolia* Humb & Bonpl, es un tipo de árbol que suele medir tres a quince metros de altura, ocasionalmente se han llegado a encontrar especímenes de 30 metros de altura, el diámetro de su tronco puede medir un metro, las hojas en estado de madurez suelen tener de cinco a veintidós centímetros de largo, por catorce centímetros de ancho. Sus frutos son anuales o bianuales, en pares o únicos, su reproducción es por plántulas, tiene capacidad de rebrotar a partir de tocones, reproducción vegetativa.<sup>95</sup> Véase tabla 6.

**Tabla 6. de datos taxonómicos de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

*Datos taxonómicos de Quercus crassifolia* Bonpl.<sup>95,96</sup>

<i>Reino</i>	Plantae
<i>Phylum</i>	Tracheophyta
<i>Clase</i>	Magnoliopsida
<i>Orden</i>	Fagales
<i>Familia</i>	Fagaceae
<i>Género</i>	<i>Quercus</i>
<i>Especie</i>	<i>Crassifolia</i>

### **2.2.18.1 Composición química de *Quercus crassifolia***

Un estudio *in vitro* evaluó la concentración total de fenoles tres especies de roble *Quercus crassifolia*, *Quercus laurina*, *Quercus scytophylla*, como resultado se obtuvo que el extracto en crudo con agua caliente de *Q. crassifolia* presentó mayor rendimiento de extracción de (20.04%), la concentración de compuestos fenólicos fue de 747.0 mg (GAE)/g, con equivalencia al ácido gálico, 25.4mg (QE)/g equivalente a quercetina y 235 mg de equivalencia a ácido hidroxicinámico (mg ChAE/g), 25.7 mg equivalentes de ácido clorogénico (ChAE)/g). *Q. crassifolia* presentó mayor concentración polifenólica respecto a los tres extractos analizados.<sup>97</sup>

### **2.2.19 Efectos y usos de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Un estudio *in vitro* evaluó la concentración total de fenoles de tres especies de roble *Quercus crassifolia*, *Quercus laurina*, *Quercus scytophylla*; *Quercus crassifolia* presentó mayor capacidad antioxidante sobre las otras especies de *Quercus*, este estudio determinó la capacidad antioxidante por su capacidad de capturar OH, O<sub>2</sub><sup>·</sup>, ROO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO y HClO, el extracto crudo obtenido con agua caliente y etanol mediante maceración de *Quercus crassifolia* presentó una capacidad antioxidante expresada como el 50% de la concentración de la concentración máxima efectiva (CE<sub>50</sub>, µg/mL), OH fue de 918, O<sub>2</sub><sup>·</sup> fue de 80.5, ROO fue de 577, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue de 597, NO fue de ≥ 4000 y HClO fue de 740.<sup>97</sup>

Hubo una segunda etapa del estudio en la que se analizó la extracción de *Quercus crassifolia* extraída con agua caliente y acetato de etilo, la concentración de los compuestos fenólicos dio como resultado una mejora en la capacidad depurativa OH fue de 467, O<sub>2</sub><sup>·</sup> fue de 50.1, ROO fue de 716, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue de 22, NO fue de ≥ 4000 y HClO fue de 108.<sup>97</sup>

### **2.2.20 Citotoxicidad de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Un estudio *in vitro* en ratas evaluó la toxicidad oral subaguda de un extracto polifenólico de Roble, *Quercus crassifolia* Bonpl. con la finalidad de usarlo en la industria

agroalimentaria sobre todo en alimentos fermentados, determinó el nivel de toxicidad subaguda por ingesta, es de 11 mg/kg/ peso por día sin efectos adversos observados, respecto al nivel subagudo de efecto adverso más bajo para daño renal fue de 33 mg/kg de peso por día.<sup>98</sup>

### **2.2.21 Método citoma, evaluación de bioseguridad en células epiteliales**

El método citogenético de citoma de micronúcleos bucales (BMcyt) se ha considerado de mínima invasión debido a que particularmente es usado en las células bucales y sirve para evaluar, medir el daño genético, la diferenciación, proliferación celular y apoptosis, en células bucales que se han exfoliado, medición del daño celular y biomonitoreo de la inhalación o exposición local a sustancias genotóxicas, además se ha usado para evaluar el estado nutricional y las condiciones de vida y su asociación sobre el ADN; el método citoma de micronúcleos bucal es una técnica citológica y citogenética de interfase mínimamente invasiva que permite medir el daño genético e identificar los biomarcadores de apoptosis del epitelio, se ha usado desde el año 1980 con la finalidad de monitorear la exposición o inhalación de agentes citotóxicos.<sup>99</sup>

Criterios del método citoma de acuerdo a Bolognesi y colaboradores (2013):

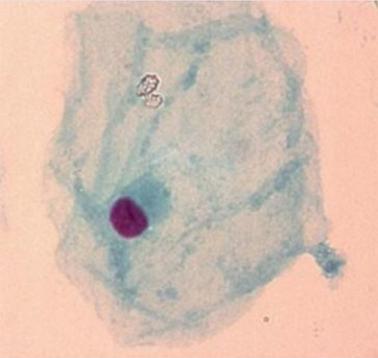
1. Célula diferenciada con normalidad.
2. Célula apoptótica con pinocitosis (Alta condensación nuclear e hipercromático).
3. Célula apoptótica con condensación de la cromatina (patrón de tinción rayado en el núcleo).
4. Célula apoptótica con cariorrexis (Núcleo vacualizado).
5. Célula con cariólisis (Ausencia de núcleo).
6. Células micro nucleadas.
7. Células binucleadas.
8. Células bulki.
9. Células con puente.<sup>99,100</sup>

### **2.2.21.1 Apoptosis y anormalidades nucleares**

Los micronúcleos se refieren a pequeños núcleos formados a partir de uno o varios cromosomas cuando no se incorporan al núcleo durante la división celular.<sup>101,102</sup> La frecuencia basal de micronúcleos en humanos sanos es de 0.30 hasta 1.70 por cada 1000 células.<sup>99</sup> La formación de MN es un indicador significativo de efectos genotóxicos e inestabilidad en los cromosomas, que puede tener dos orígenes, inducido o hereditario, las células con micronúcleos tienen un valor diagnóstico importante debido a que permiten evaluar el daño en el ADN, defectos cromosómicos y estrés, también permite evaluar estabilidad genómica de los seres humanos.<sup>102,103,104,105</sup>

Las células cancerosas pueden tener micronúcleos dobles, marcadores supernumerarios en mancuerna; los micronúcleos están relacionados a aberraciones cromosómicas, muerte celular mitótica defectuosa, desastre mitótico, caos nuclear gigante, caos genómico.<sup>106, 107, 108, 109</sup> Véase tabla 7

**Tabla 7. Características de células diferenciadas, apoptóticas y con alteraciones genéticas de acuerdo a los criterios de Bolognesi, las imágenes fueron tomadas de los artículos citados.**

Tipo de célula	Características	Imagen
<b>Célula diferenciada con normalidad.</b>	Citoplasma plano, núcleo uniformemente teñido y redondo/ovalado, la relación del núcleo-citoplasma es pequeña. <sup>99,100</sup>	
<b>Células apoptóticas</b>		
<b>Célula apoptótica con pinocitosis</b>	Núcleo que presenta contracción, apariencia pequeña con respecto al citoplasma, intensamente teñido. <sup>99,100</sup>	

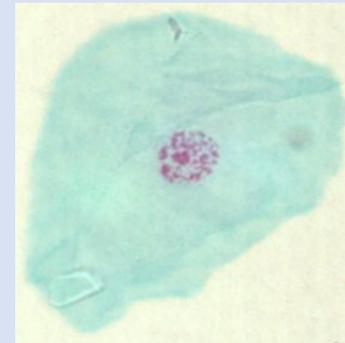
**Célula apoptótica con condensación.**

Núcleo con patrón estriado, cromatina paralela condensada, las cuales se observan intensamente teñidas. <sup>99,100</sup>



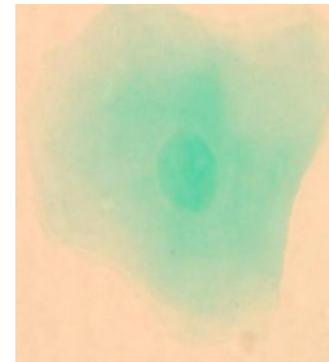
**Célula apoptótica con cariorrexis**

Núcleo con extensa agregación de cromatina, núcleo fragmentado. <sup>99,100</sup>



**Célula con cariólisis**

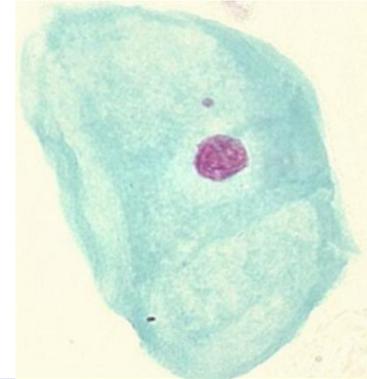
Ausencia de núcleo  
Célula con ausencia de núcleo, tinción de Feulgen negativa, también denominada célula fantasma. <sup>99,100</sup>



## Anomalías celulares

### **Micronúcleos**

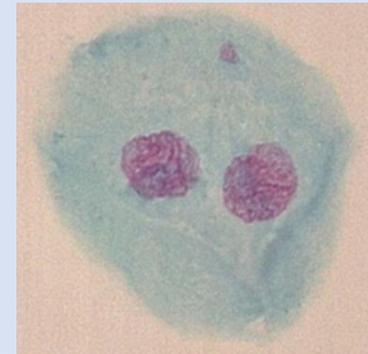
Presencia de uno o más micronúcleos alrededor del núcleo principal, el tamaño de los micronúcleos es de  $1/3$  y  $1/16$  del tamaño del núcleo. Es un biomarcador de daño genético (son fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros perdidos durante la mitosis).  
99,100



### **Células**

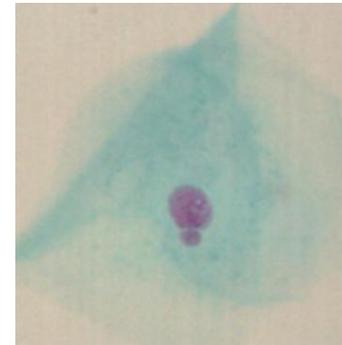
### **binucleadas**

Presenta dos núcleos de tamaño y forma similares, tinciones iguales, compartiendo un citoplasma. Asociado a inestabilidad genómica. 99,100



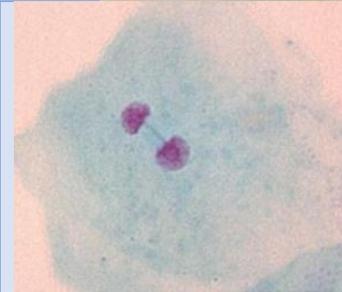
**Células bulki**

Nuclear buds" (NBUDs) Protrusiones nucleares conectadas al núcleo principal por un puente nucleoplásmico. Pueden ser pequeñas (1/3-1/16 del núcleo) o grandes ("broken eggs").<sup>99,100</sup>



**Células con puente**

Estructuras delgadas o anchas de material nuclear que conectan el núcleo principal con un NBUD.<sup>99,100</sup>



### 2.3 Planteamiento del problema

En la actualidad existen estudios que indican que la prevalencia de periodontitis en adultos, en todos sus grados es del 51% en hispanos y latinos, siendo la comunidad mexicana la que presentó la prevalencia más alta, en todos los niveles de severidad.<sup>110</sup>

A nivel mundial se sabe que la periodontitis es un problema de salud pública grave con una prevalencia de aproximadamente 90%, ya que 1 de cada 10 adultos tiene periodontitis severa estadio III y IV y solo el 10% de la población es sana, el 80% restante de la población adulta tienen gingivitis o periodontitis leve o moderada.<sup>27,110</sup>

La periodontitis es una enfermedad multifactorial inflamatoria crónica asociada a biopelículas disbióticas, causante de la pérdida de soporte de tejido periodontal, inserción clínica y del hueso alveolar, lo cual conduce a la pérdida dental, además de la alteración de la función masticatoria y estética.<sup>27</sup>

El tratamiento periodontal consiste en la eliminación de los factores causales, principalmente la biopelícula disbiótica y la disminución de los factores de riesgo locales y sistémicos, el primer paso de la terapia periodontal consiste en el control de la biopelícula dental supragingival y subgingival, la cual se realiza por medio procedimientos mecánicos y químicos, como lo son los enjuagues bucales antisépticos.<sup>9,32</sup>

En la actualidad se hace uso de enjuagues bucales herbales de extractos de *Quercus spp.* como terapias adyuvantes al tratamiento no quirúrgico periodontal los cuales tienen ventajas Fito terapéuticas que permiten su uso como remedio para la periodontitis.

Estudios previos evaluaron el uso de un enjuague bucal a base de diversos extractos entre ellos una especie de *Quercus*, el cual mejoró la condición periodontal en la gingivitis inducida por placa después de dos semanas, comparable al efecto del enjuague bucal con clorhexidina al 0.20 % en términos de sangrado al sondeo, profundidad de bolsa al sondeo, índice gingival e índice de placa. Algunos estudios fitoquímicos actuales de la especie de árbol del género *Quercus* demostraron la presencia de ácidos fenólicos especialmente el ácido elágico, ácido

gálico y sus derivados, flavonoides y taninos reconocidos como omnipresentes en todas las especies de roble las cuales suelen presentar efectos antimicrobianos incluso comparables con antibióticos, aunque algunas especies de roble son más efectivas que otras incluso en bacterias periodontopatógenas, son prometedoras para el uso en tratamientos periodontales.

Los colutorios a base de extractos de hierbas o cortezas de árboles de encino o roble *Quercus spp.* sirven para aminorar las molestias de la inflamación periodontal existen productos que en combinación de otras plantas han mostrado resultados prometedores en el tratamiento periodontal no quirúrgico.

En este trabajo se propone la elaboración de un enjuague bucal asequible, a base de extracto de la corteza de Roble *Quercus spp.*, como terapia adyuvante del tratamiento mecánico periodontal, que ofrezca probables efectos antimicrobianos, antiinflamatorios para los pacientes con periodontitis, considerando la posibilidad de la aparición de pocos efectos secundarios en comparación a los agentes químicos usados en los enjuagues bucales de uso clínico profesional.

¿El enjuague bucal de roble podría funcionar para el control de la inflamación periodontal sin ocasionar genotoxicidad?

### III JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de la periodontitis depende de un huésped susceptible, de la presencia de la biopelícula subgingival y patógenos periodontales, específicamente especies anaerobias gramnegativas del “complejo rojo” en las cuales incluyen *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Porphyromonas gingivalis*, que producen una inflamación periodontal crónica, mismas que se encuentran en bolsas periodontales profundas.<sup>49,57,59</sup>

El tratamiento periodontal consiste en la eliminación de los factores causales, principalmente de biopelícula disbiótica, el cual se realiza por medio procedimientos mecánicos y químicos como lo son los enjuagues bucales antisépticos.<sup>9,32</sup>

Un enjuague bucal con extracto de Roble, *Quercus spp.* con efecto antimicrobiano comparable con los efectos de la clorhexidina “estándar de oro” como antiséptico bucal, permitirá controlar la formación de biopelícula y acumulación de bacterias periodontopatógenas planctónicas, considerándolo como opción adyuvante herbal para la terapia periodontal.

Se ha identificado que el gluconato de clorhexidina disminuye la actividad fibroblástica para el cierre de heridas además de presentar, efectos secundarios como alteración del gusto y descamación de las células de la mucosa yugal.<sup>87</sup>

Uno de los enjuagues más usados para la terapia periodontal es la clorhexidina al 0.12% y 0.20%, debido a su eficacia antimicrobiana, sin embargo, se debe considerar que el uso *in vitro* de clorhexidina al 0.2% detiene la migración de las células en bloque, además de reducir de manera considerable la vida de los fibroblastos, mioblastos y osteoblastos.<sup>87,88,90,91</sup>

Este trabajo pretende evaluar los efectos secundarios producidos por el uso del enjuague con extracto de roble, con el objetivo de aportar información respecto a sus efectos secundarios, por tanto, el impacto de este trabajo consiste en la evaluación de la citotoxicidad en las células epiteliales de la mucosa yugal de los pacientes con periodontitis estadio II y III, que usen el enjuague bucal con extracto

de roble *Quercus spp.* cuya finalidad es aportar información sobre la confiabilidad de su uso.

También se propone evaluar el efecto antimicrobiano en cepas periodonto patógenas *in vitro* para identificar si la especie de roble de la cual se obtendrá el extracto tiene efectos antimicrobianos en cepas periodonto patógenas, y comparar su efecto con la clorhexidina.

Se evaluará el efecto antiinflamatorio clínico previo a la terapia periodontal mecánica no quirúrgica, esto con la finalidad de establecer si el enjuague bucal tiene efecto en la disminución del sangrado al sondeo y la inflamación clínica periodontal.

Hemos considerado que el enjuague con extracto de *Quercus crassifolia*, podría ser asequible, por lo tanto, podrá beneficiar a los pacientes mexicanos de escasos recursos y permitirles el acceso a las terapias adyuvantes periodontales herbales, debido a que los enjuagues bucales que se utilizan comúnmente para el tratamiento periodontal suelen ser costosos.

Se pretende obtener respuesta de la eficacia del uso etnobotánico de los enjuagues bucales de roble que, en las comunidades de Huasca de Ocampo, Omitlán de Juárez y Atotonilco el Grande, Hidalgo México, acostumbran a usarse como remedio alternativo para mitigar los signos y síntomas ocasionados por la periodontitis.

#### **IV HIPÓTESIS**

Si los extractos hidroalcohólicos y el acuoso de la corteza de roble (*Quercus crassifolia* Bonpl.) tienen efecto antioxidante y actividad antimicrobiana frente a bacterias periodontopatógenas, podrían ser administrados vía tópica oral en enjuague bucal, en pacientes con periodontitis, puesto que serían útiles para reducir la inflamación clínica periodontal y tratar la periodontitis, sin presentar genotoxicidad.

## V OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Identificar una especie de roble, obtener extractos de la corteza, para evaluar *in vitro* el efecto antimicrobiano en cepas periodonto patógenas, además de su actividad antioxidante, evaluar el efecto en la inflamación periodontal y la genotoxicidad en células epiteliales.

### 5.2 Objetivos Específicos

1. Identificación del árbol de roble, obtención de la corteza, elaboración de un extracto hidroalcohólico y un extracto acuoso de roble de la especie *Quercus crassifolia* Bonpl.

2. Análisis fitoquímico cualitativo de los compuestos químicos de los extractos de *Quercus crassifolia* Bonpl., evaluar el efecto antibacteriano en cuatro cepas periodontopatógena además de analizar el efecto antioxidante *in vitro*.

3. Elaboración de un enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de roble de la especie *Quercus crassifolia* Bonpl. evaluar el efecto en la inflamación clínica periodontal, así como determinar el efecto citotóxico en pacientes con periodontitis.

## VI MATERIALES Y MÉTODOS

### Contexto de la investigación

El protocolo del estudio fue aprobado por el comité de ética del Instituto de Ciencias de la salud de La Universidad Autónoma del estado de Hidalgo el 2 de julio del 2024 con número de oficio 235.

Treinta y dos pacientes fueron incluidos en este proyecto de investigación, todos participaron de manera voluntaria, todas cuentan con consentimiento informado.

Este trabajo de investigación *in vitro* fue realizado en los laboratorios de inmunología del Área Académica de Medicina, del Instituto de Ciencias de la Salud, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, en el laboratorio de Genética molecular de la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma del Estado de Hidalgo y en el Laboratorio de Fitoquímica de la Fes Iztacala de la UNAM, el inicio de la investigación se llevó a cabo en enero del 2024 a abril del 2025.

La investigación clínica *in vivo* fue realizada en: Dirección, Carretera Pachuca-Actopan camino a Tilcuautla s/n Pueblo San Juan, Código postal 42160.

Área académica de Medicina del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Laboratorio de Materiales Dentales del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Clínica 3 del Área Académica de odontología de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

País: México, Estados Unidos Mexicanos, situado en la parte meridional de América del Norte, decimocuarto país más extenso del mundo, con una población de 118 millones de Habitantes, lengua materna el español con 67 lenguas indígenas.

Estado de Hidalgo: Estado mexicano erigido el 15 de enero de 1869, conformado por 84 municipios con una población de 3,082,841. Su capital es Pachuca de Soto Hidalgo.

Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, Universidad más antigua del Estado de Hidalgo, fundada en febrero de 1869, en el año de 1940 se fundó la escuela de medicina. Tiene como símbolo universitario una garza; “Amor, Orden y Progreso” es su lema, ubicación del edificio central en Pachuca de Soto Hidalgo, en la calle de Abasolo, número 600.

La investigación *in vitro* se realizó con cuatro cepas periodonto patógenas *Actinomyces israelii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo *b*, *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*.

La investigación *in vivo* se realizó en pacientes con periodontitis estadio I, II, III, IV atendidos en las clínicas de periodoncia de quinto semestre del Área Académica de odontología de la UAEH.

### **6.1.2 Tipo y diseño de estudio**

Estudio *in vitro* e *in vivo*, diseño experimental prospectivo clínico, doble ciego, cualitativo y cuantitativo.

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

#### **Criterios de inclusión Grupo experimental y control en pacientes:**

- Pacientes mujeres y hombres con periodontitis estadio I, II, III, IV, localizada o generalizada de 18 a 65 años de edad.
- Pacientes que aceptaron participar voluntariamente y firmaron una carta de consentimiento informado.
- Pacientes diabéticos controlados, hipertensión, sistémicamente sanos, enfermedades sistémicas controladas.
- Pacientes con restauraciones dentales fijas metálicas, resina, cerámicas, zirconia, metal- cerámica.
- Con serie radiográfica dentoalveolar completa y fotografías intraorales.
- Pacientes que no hayan usado analgésicos, medicamentos en el último mes.

- Que no usen medicamentos como bifosfonatos o quimioterapia en los últimos 5 años.

### **Criterios de inclusión para evaluación de citotoxicidad de células epiteliales de la mucosa yugal**

- Por cada individuo deberán tomarse 3 muestras por cada día de toma, muestra del día 0, 7, 15 y cita de valoración (posterior al tratamiento de raspado y alisado radicular), con un total de 8 muestras por paciente, cada muestra deberá contener como mínimo 1000 células epiteliales.
- Boca higienizada con media hora de antelación.

### **Criterios de exclusión en pacientes para grupo experimental y control**

- Pacientes que se automediquen.
- Pacientes con adicciones a estupefacientes
- Pacientes que hayan usado antibióticos o enjuagues en los últimos 15 días. Pacientes que revoquen o no autoricen el consentimiento informado.
- Quienes no hayan llevado a cabo las indicaciones de uso al enjuague bucal de *Quercus crassifolia* Bonpl.
- Pacientes que hayan abandonado la investigación.
- Quienes no concluyan el tratamiento periodontal no quirúrgico o que no asistan a las citas de revisión.
- Pacientes con enfermedades sistémicas no controladas.
- Embarazo y lactancia
- Uso de antibióticos o antisépticos
- Enfermedades autoinmunes, VIH / SIDA, hemofilia, enfermedades autoinmunes e infecciosas.
- Lesiones como aftas, úlceras, lesiones que interfieran con la toma de muestra.

## **Criterios de exclusión para evaluación de citotoxicidad de células epiteliales de la mucosa yugal.**

- Pacientes que presenten liquen plano, fibromas, leucoplasias, lesiones por papiloma humano, eritro-leucoplasias o lipomas en mucosa yugal, ulceraciones.
- Cuando no se recolectan las 8 muestras que se deben obtener por paciente.
- Mala calidad de la muestra que no permitiera obtener la información de morfología nuclear.

### **6.3 Tamaño de muestra y muestreo**

Se revisaron 100 pacientes, 39 aceptaron participar en el ensayo clínico, de los cuales 3 participantes no asistieron a la última cita del tratamiento, 1 abandonó el estudio en una segunda sesión, 3 pacientes fueron concluidos en cuanto a tratamiento, pero fueron descartados porque las muestras celulares no cumplieron con los criterios de inclusión.<sup>111</sup>

El total de pacientes incluidos en el estudio fue de 32, que cumplieron con los criterios de inclusión.

### **6.4 Descripción de la población**

Pacientes mexicanos con periodontitis estadio I, II, III y IV, de 18 a 65 años de edad, que acuden para atención dental a las clínicas odontológicas por parte del departamento de periodoncia del **Área Académica de Odontología del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo**, sistémicamente sanos, con enfermedades sistémicas controladas, un grupo con usó de enjuague de extracto de *Quercus crassifolia* Bonpl. (diecisiete pacientes) y un grupo usó el enjuague de clorhexidina al 0.12%, marca comercial (quince

pacientes) durante 15 días cada 12 horas; total de pacientes del grupo experimental 32 pacientes.

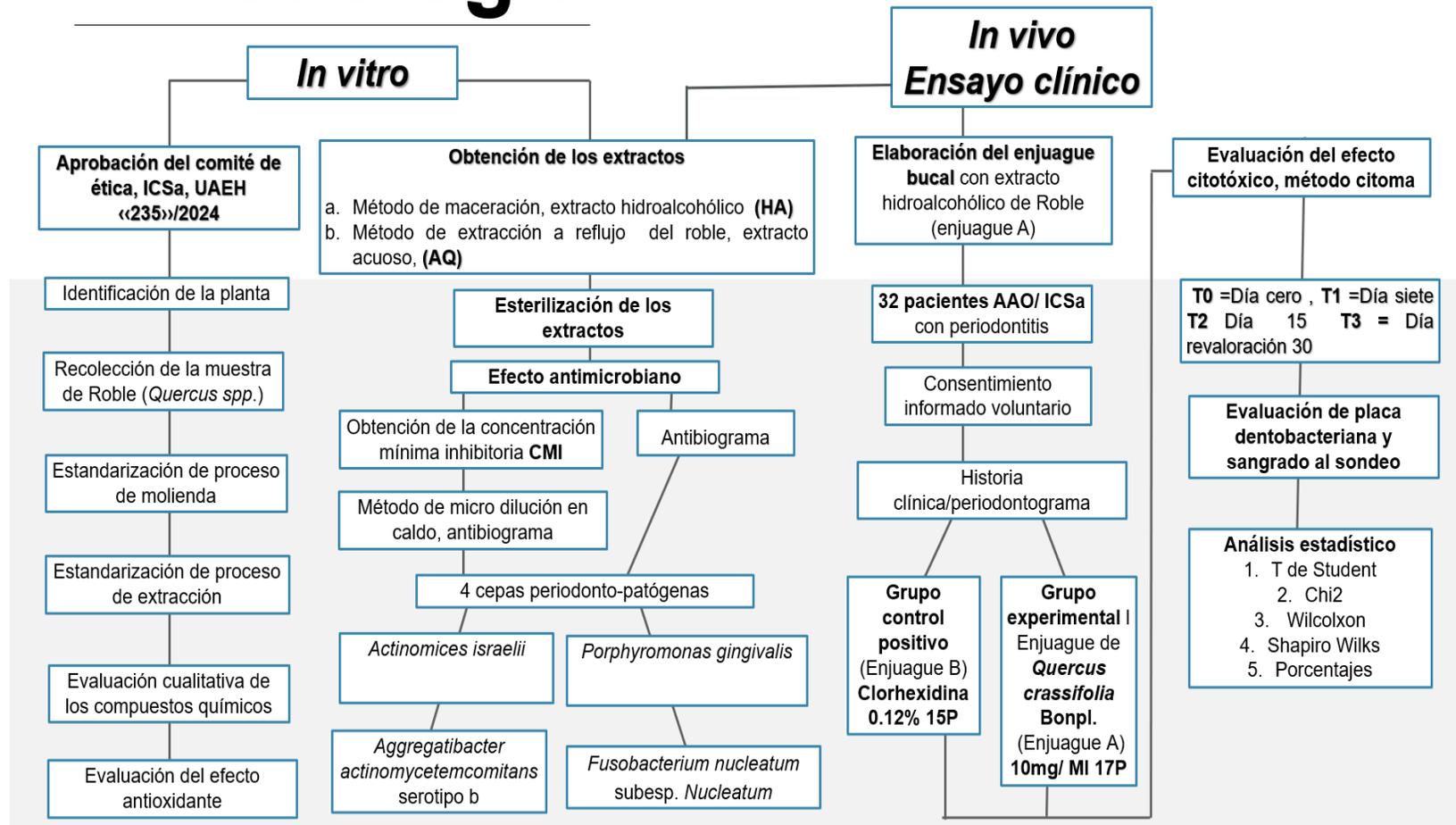
2. Células epiteliales de la mucosa yugal de pacientes con periodontitis estadio I al IV, 12 muestras por paciente, 3 muestras en cada toma, que se tomaron antes del uso del enjuague, a los 7 y 15 días después de su uso y al finalizar el tratamiento periodontal raspado y alisado radicular sin el uso del enjuague bucal, las muestras contenían 1000 células epiteliales.

3. Cepas periodontopatógenas estandarizadas de la Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM, *Actinomyces israelii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b*, *Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*. Véase Diagrama 1.

## 6.5 Diagrama 1. Diseño experimental.

### Diseño experimental metodología

# Metodología



## 6.6 Definición de variables (dependientes, independientes)

Tabla 8. Definición de variables (dependientes, independientes)

Tipo de variable	Definición teórica	Definición operacional	Escala de medición	Categorías
<b>Independiente</b>	<b>Variable: extracto hidroalcohólico de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.</b>			
<b>Cuantitativa continua</b>	Extracción hidroalcohólica por maceración concentrada de la corteza de Roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. en forma líquida. <small>68,69</small>	Extracción hidroalcohólica estéril al 30% de etanol grado reactivo y 70% de agua desionizada, concentrada de la corteza de Roble <i>Quercus crassifolia</i> en forma líquida en miligramos por mililitros (mg/mL).	Concentración en miligramos por mililitro (mg/mL)	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 1000 mg/mL</li> <li>● 500 mg/mL</li> <li>● 250 mg/mL</li> <li>● 125 mg/mL</li> <li>● 62.5 mg/mL</li> <li>● 31.2 mg/mL</li> <li>● 15.6 mg/mL</li> <li>● 7.8 mg/mL</li> </ul>
<b>Independiente</b>	<b>Variable: extracto acuoso de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.</b>			
<b>Cuantitativa continua</b>	Extracción acuosa por reflujo, concentrada de la corteza de Roble	Extracción acuosa estéril, concentrada de la corteza de Roble	Concentración en miligramos	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 1000 mg/mL</li> <li>● 500 mg/mL</li> <li>● 250 mg/mL</li> </ul>

	<i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. en forma líquida. 68	<i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. en forma líquida en miligramos por mililitros (mg/mL)	por mililitro (mg/mL)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 125 mg/mL</li> <li>• 62.5 mg/mL</li> <li>• 31.2 mg/mL</li> <li>• 15.6 mg/mL</li> <li>• 7.8 mg/mL</li> </ul>
<b>Dependiente Cuantitativa discreta</b>	<b>Variable: unidades formadoras de colonias UFC</b>			
	Indicador microbiológico del crecimiento de microorganismos vivos en una sustancia. <sup>112</sup>	Crecimiento de colonias bacterianas en placa de cultivo.	Unidad cuantitativa de colonias bacterianas	<b>Categorías:</b> no aplicables
<b>Independiente Cuantitativa continua</b>	<b>Variable: enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de Roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.</b>			
	Producto líquido con extracto concentrado hidroalcohólico de la corteza de Roble, <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. y agua esterilizada, para enjuagarse la boca.	Sustancia líquida con extracto concentrado de la corteza de roble <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl. diluida en agua destilada, para uso oral, dispensada en mililitros.	Mililitros	Sin categorías

	<p>Escala de medición: mililitros</p> <p>Escala de medición: Cuantitativa continua.<sup>69</sup></p>			
<b>Dependiente Cualitativa dicotómica</b>	<b>Variable: sangrado al sondeo</b>			
	<p>Indicador de inflamación gingival alrededor de dientes o implantes dentales endoóseos, parámetro que permite identificar enfermedades periodontales.<sup>113</sup></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>positivo al sondeo y edema.</li> </ul> <p>Indicadores: sangrado al sondeo de boca completa &gt;15% sugiere inestabilidad periodontal.</p>	<p>Porcentaje de sangrado al sondeo y signos de inflamación gingival, de boca completa.</p>	<p>Ausencia y presencia de sangrado</p>	<p><b>Categorías:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>0:</b> sangrado al sondeo positivo, cambio de coloración, edema, inflamación gingival.</li> <li><b>1:</b> inflamación leve, cambio de coloración ligero, sangrado</li> </ul>

<b>Dependiente Cuantitativa discreta</b>	<b>Variable: nivel de inserción</b>			
	Distancia que se mide con una sonda periodontal estandarizada de la unión cemento esmalte al fondo de la bolsa periodontal o surco, se puede cuantificar sumando la profundidad al sondeo más la recesión gingival o bien la profundidad al sondeo menos la hiperplasia gingival. <sup>114,115</sup>	Medida obtenida con una sonda periodontal milimétrica de la unión cemento esmalte a la punta de la sonda.	Milímetros	No aplica
<b>Dependiente Cuantitativa discreta</b>	<b>Variable: profundidad de bolsa</b>			
	Medición en el surco periodontal del margen gingival a la punta de la sonda periodontal seis sitios, mesial, medio y	Medida obtenida con una sonda periodontal Carolina del Norte de 15 mm Hu Friedy, del	Milímetros	No aplica

	distal tanto en bucal como en lingual o palatino, con una sonda periodontal Carolina del Norte milimétrica, UNC-15. <sup>114,115</sup>	margen gingival a la punta de la sonda.		
<b>Dependiente Cualitativa dicotómica</b>	<b>Variable: placa dentobacteriana</b>			
	Masa organizada, formada principalmente por microorganismos incrustados en una matriz de glicopolímeros, que se adhiere a los dientes, prótesis y superficies bucales, se encuentra en el surco gingival y las bolsas periodontales, los componentes son una matriz orgánica de polisacárido, enzimas, subproductos bacterianos, células descamadas, calcio y fosfato. <sup>115,116,117</sup>	<b>Definición operacional:</b> presencia observable con solución reveladora de placa dentobacteriana, de biopelícula en forma de masa organizada, formada por bacterias y sus productos fuertemente adheridos a la superficie dental y prótesis fijas, en los sitios mesial, medio y distal de cara vestibular y lingual o palatina.	Positivo o negativo a la presencia de placa dentobacteriana	<b>Categorías:</b> 0: ausencia de placa 1: presencia de placa

<b>Independiente Cuantitativa discreta</b>	<b>Concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Quercus crassifolia</i> Bonpl</b>			
	Es la concentración más baja expresada en (ug/ml) de un antibiótico o sustancia antimicrobiana que inhibe el crecimiento de una determinada bacteria. <sup>118</sup>	: Presencia o ausencia del crecimiento bacteriano de dos cepas periodonto patógenas ( <i>Porfiromonas gingivalis</i> y <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitan</i> s) en un caldo expresada como la concentración más baja en (ug/ml) del extracto de <i>Quercus spp.</i> ausencia de turbidez.	Miligramos por mililitro	<b>Categorías:</b>
<b>Dependiente Cuantitativa continua</b>	<b>Variable: halo de inhibición antibiograma</b>			
	zona de inhibición de crecimiento	Halo de inhibición del crecimiento bacteriano	Milímetros	No aplica
			<ul style="list-style-type: none"> <li>● Carril 1: 1000 mg/mL</li> <li>● Carril 2: 500 mg/mL</li> <li>● Carril 3: 250 mg/mL</li> <li>● Carril 4: 125 mg/mL</li> <li>● Carril 5: 62.5 mg/mL</li> <li>● Carril 6: 31.2 mg/mL</li> <li>● Carril 7: 15.6 mg/mL</li> <li>● Carril 8: 7.8 mg/mL</li> </ul>	

	antibacteriano que se forma alrededor de discos impregnados con antimicrobianos o antibióticos. <sup>117,118</sup>	de cuatro cepas periodonto patógenas ( <i>Fusobacterium nucleatum nucleatum</i> , <i>Actinomyces israelii</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> y <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b</i> ) en un caldo expresada como la concentración más baja en (ug/ml) del extracto de <i>Quercus spp.</i> ausencia de turbidez.		
<b>Dependientes</b>	<b>Células apoptóticas</b>			
<b>Cuantitativas discretas</b>	<b>Célula diferenciada con normalidad:</b> Citoplasma plano, núcleo uniformemente teñido y redondo/ovalado, la relación del núcleo-	<b>Célula diferenciada con normalidad:</b> núcleo semi ovalado con tinción uniforme, sin alteración nuclear.	Frecuencia en el número de células diferenciadas o con apoptosis con núcleo que existen en el	Célula diferenciada con normalidad.  Célula apoptótica con pinocitosis (Alta condensación nuclear e hipercromático.

<p>citoplasma es pequeña.<sup>99-109</sup></p> <p><b>Célula apoptótica con pinocitosis (Alta condensación nuclear e hipercromático:</b> núcleo que presenta contracción, apariencia pequeña con respecto al citoplasma, intensamente teñido.<sup>99-109</sup></p> <p><b>Célula apoptótica con condensación:</b> núcleo con patrón estriado, cromatina paralela condensada, las cuales se observan intensamente teñidas.<sup>99-109</sup></p> <p><b>Célula apoptótica con cariorrexis (Núcleo</b></p>	<p><b>Célula apoptótica con pinocitosis:</b> núcleo pequeño intensamente teñido.</p> <p><b>Célula apoptótica con condensación:</b> núcleo estriado teñido.</p> <p><b>Célula apoptótica con cariorrexis (Núcleo</b></p>	<p>(conteo de 1000 células).</p>	<p>Célula apoptótica con condensación de la cromatina (patrón de tinción rayado en el núcleo).</p> <p>Célula apoptótica con cariorrexis</p> <p>Célula con cariólisis</p>
--	--	----------------------------------	--

	<p><b>vacualizado):</b> núcleo con agregación amplia de cromatina, apariencia moteada o fragmentada (etapa avanzada de apoptosis, núcleo vacuolizado).<sup>98-109</sup></p> <p><b>Célula con kariolisis (Ausencia de núcleo):</b> Célula con ausencia de núcleo, tinción de Feulgen negativa, también denominada célula fantasma.<sup>99,100</sup></p>	<p><b>vacualizado):</b> núcleo con extensa agregación de cromatina, núcleo fragmentado. Desintegración del núcleo.</p> <p><b>Célula con kariolisis (Ausencia de núcleo):</b> Ausencia de núcleo únicamente se observa el citoplasma.</p>		
<b>Dependiente Cuantitativa discreta</b>	<b>Anormalidades nucleares</b>			
	<p><b>Células micro nucleadas:</b> presencia de uno o más micronúcleos alrededor del núcleo principal, el tamaño de los</p>	<p><b>Células micro nucleadas:</b> núcleo con uno o más micronúcleos alrededor.</p>	<p>Frecuencia en el número de células con anomalías nucleares o con alteraciones del</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Células micro nucleadas.</li> <li>● Células binucleadas.</li> <li>● Células bulki.</li> </ul>

<p>micronúcleos es de 1/3 y 1/16 del tamaño del núcleo. Es un biomarcador de daño genético (son fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros perdidos durante la mitosis).<sup>99-108</sup></p> <p><b>Células binucleadas:</b> dos núcleos de tamaño y forma similares, tinciones iguales, compartiendo un citoplasma. Asociado a inestabilidad genómica.<sup>99,100</sup></p> <p><b>Células bulki:</b> Características: nuclear buds" (NBUDs) Protrusiones nucleares conectadas al núcleo principal por un puente</p>	<p><b>Células binucleadas:</b> célula con dos núcleos que comparten citoplasma.</p> <p><b>Células bulki:</b> Protuberancias nucleares conectadas al núcleo principal por un puente nucleoplásmico</p>	<p>material genético, que existen en el conteo de 1000 células.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células con puente.<sup>69,105</sup></li> </ul>
--	---	---	--

	<p>nucleoplásmico.  Pueden ser pequeñas (1/3-1/16 del núcleo) o grandes ("broken eggs")<sup>99,100</sup></p> <p><b>Células con puente:</b>  Estructuras delgadas o anchas de material nuclear que conectan el núcleo principal con un NBUD.<sup>99,100</sup></p>	<p><b>Células con puente:</b>  células con un núcleo conectado por una estructura delgada de material nuclear.</p>		
--	--	--	--	--

## 6.7 Prueba (principio y procedimiento)

### 6.7.1 Obtención de la muestra de corteza de Roble de *Quercus crassifolia* Bonpl.

Se seleccionó un árbol de roble con el apoyo de los habitantes de la comunidad de Agua Limpia municipio de Atotonilco el Grande, Hidalgo, México, quienes usan la corteza del árbol de manera tradicional como enjuague para mitigar las molestias bucales. Se recolectaron 15 kg de corteza de roble, con un hacha, evitando afectar las zonas más profundas del tronco central del árbol, también se recolectaron bellotas y 4 ramas con hojas de 25 a 30 centímetros, para la identificación del Roble, *Quercus spp.* Véase figura 5.



Obtención de la corteza



Árbol de roble

**Figura 5. Obtención de la corteza de roble y fotografía del árbol de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

### 6.7.2 Prensado y secado de la corteza de Roble

Fundamentalmente este método de prensado y secado, se realiza para eliminar toda el agua de las muestras herbales, además de favorecer su longevidad y la calidad de la muestra, es el primer paso a seguir para evitar la descomposición y destrucción por parte de agentes infectivos oportunistas como insectos, mohos, bacterias.<sup>120</sup>

Se eliminaron los insectos que presentó la muestra, se eliminó líquen y polvo de con un cepillo de cerdas metálicas posteriormente se colocó la corteza de árbol de Roble, *Quercus spp.* entre hojas de periódico y cartulina de manera gentil, encima se colocó un cartón, se volvió a colocar una capa de hojas de periódico o cartulina, encima la corteza extendida, se colocó de nuevo periódico, y una capa de cartón o cartulina, seguidamente se colocaron los cartones en ambos extremos y se colocan entre dos rejillas de madera de 7 mm de grosor y se anudan fuertemente con un cordón y una prensa en las, cuatro esquinas de la tablas de madera, se abrían cada tercer día para cambiar de posición de la corteza y verificar que no hubo presencia de hongos, de la misma forma se prensaron las ramas que se entregaron al herbario para la identificación de la especie.<sup>120</sup>

Se debe etiquetar la muestra de corteza con los siguientes datos: Véase tabla 9.

**Tabla 9. Etiqueta de la muestra de *Quercus crassifolia* Bonpl.** <sup>120</sup>

<b><i>Etiqueta de recolección de la planta</i></b>	
Nombre científico	<i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.
Nombre vulgar	Encino, árbol quiebra hachas, roble
Localización geográfica	Agua limpia, Atotonilco el Grande
Apellido y nombre del recolector	Angeles Espinosa Iriana Yunuen
Localización geográfica	Estado de Hidalgo, México
Fecha de colección de la muestra	Siete días de enero del año 2024
Catálogo herbario UNAM	183420
Usos específicos	Enjuague bucal, úlceras
Virtud curativa	Control de dolor o infecciones bucales
Latitud	20° 14' 30.171
Altitud	98° 38' 22.631

### **6.7.3 Astillado y obtención de la harina de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Una vez seca la muestra se pesó para determinar el rendimiento, se astilló la corteza de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. en una picadora de forraje mediana Rayken Rkp 1800, con motor, el proceso por toda la corteza, llevó aproximadamente diez minutos, se recolectó el astillado de la corteza y se almacenó en recipientes herméticos oscuros de plástico, posteriormente se pulverizó la corteza astillada en un molino pulverizador Gutstark de 110 V, la pulverización fue de 5 minutos por cada 100 gramos, se tamizó, se envasó al vacío en bolsas de plástico, pesadas cada una con 100 gramos de harina de roble. <sup>121</sup>

#### 6.7.4 Preparación de la planta y su extracción (maceración)

La maceración es un método que se usa generalmente para extraer principalmente taninos, polifenoles, antocianos y las combinaciones de estos, de una muestra sólida a líquida. <sup>120</sup>

Los extractos son extracciones concentradas de plantas medicinales en forma líquida uno a uno, semisólida menos del 25 % o seca con una humedad del menos 5 %.<sup>68,70</sup>

#### 6.7.5 Obtención del extracto hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.

El método de obtención del extracto hidroalcohólico de la corteza de roble: la solución hidroalcohólica al 30 % se preparó con 700 mL de agua desionizada y 300 mL de etanol grado reactivo, lo cual se mezcló por agitación mecánica para posteriormente adicionar al litro de solución contenida en frasco ámbar y protegido de la luz, 100 g de harina de corteza de roble colocada en el frasco para su maceración por 24 horas con agitación mecánica, cada 3 horas para suspender el material vegetal. <sup>77,78,79,120,121</sup>

Una vez obtenida la mezcla se filtró por primera vez con papel filtró, se realizó un segundo filtrado, con filtro de Whatman número 1, al vacío con embudo de Buchner. <sup>77,78,79,120,121</sup> Véase figura 6.

Figura 6.



## Figura 6. Método de obtención del extracto hidroalcohólico de roble.

Obtenido el extracto filtrado se colocó en un rotavapor hasta que se evaporó, se recuperó el etanol, la finalidad fue concentrar el extracto, no se secó en su totalidad. La consistencia fue similar a la de la melaza, con una densidad de 1.083 g/mL, color ámbar oscuro, de sabor amargo, terroso y astringente.<sup>78,79,120,121,122</sup>

El extracto se esterilizó finalmente con filtros de 0.22 micras al vacío en campana de reflujo laminar, se almacenó en frasco estéril de recolección del filtro y se congeló a -15°C.<sup>78,79,120,121</sup> Véase figura 7.



Uso de campana para esterilidad de los extractos



Filtrado, para esterilizar

## Figura 7. Esterilización de los extractos hidroalcohólico y acuoso de la corteza de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.

### 6.7.6 Obtención del extracto acuoso de la corteza de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. por método de extracción a reflujo

El método de extracción a reflujo permitió la obtención del extracto acuoso de la corteza de roble, se mezcló agua desionizada (un litro) con 100 gramos de harina de roble, se agitó constantemente en un matraz de bola. Posteriormente en tres

matraces de bola con capacidad de 500 mL cada uno, se introdujo la mezcla anteriormente mencionada, cada uno de los matraces se conectaron a un refrigerante, de manera subsecuente se colocó sobre una placa de calentamiento de laboratorio sin hacer contacto con el matraz de bola, llegando a ebullición durante una hora, se dejaron los matraces con el extracto a enfriar a medio ambiente.<sup>120,121</sup>

Una vez obtenida la mezcla se filtró por primera vez con papel filtró, se realizó un segundo filtrado, con filtro de Whatman número 1 al vacío con embudo de Buchner. Una vez obtenido el extracto filtrado. Se esterilizó con filtros de 0.22 micras al vacío en campana de reflujo laminar, se almacenó en frasco estéril de recolección del filtro. El extracto obtenido tuvo un rendimiento de 590 mL, con una densidad de 1.022 g/mL, de color café oscuro, rojizo, de sabor astringente. El extracto se almacenó en el contenedor del filtro de esterilización a -15°C.<sup>121</sup> Véase figura 7 y 8.



**Figura 8. Método para obtención de extracto acuoso de la corteza de roble.**

### **6.7.7 Evaluación del efecto antioxidante de los extractos de *Quercus crassifolia* Bonpl. Ensayo de DPPH ( $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo)**

El método de eliminación de radicales libres  $\alpha$ ,  $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo (DPPH), permite evaluar el posible potencial antioxidante de un compuesto.<sup>123,124</sup>

El ensayo tiene su principio básico en la medición de la capacidad de eliminación de los antioxidantes para con él, el electrón impar del átomo de nitrógeno en el DPPH ( $\alpha$ -difeníl- $\beta$ -picrilhidrazilo) se reduce al recibir un átomo de hidrógeno de los antioxidantes a la hidracina que corresponde.<sup>124</sup>

Ofrece un enfoque inicial para evaluar el posible potencial antioxidante de un compuesto o sustancia, un extracto los cuales se mezclan con DPPH y se registra la absorbancia.<sup>125</sup>

Los radicales libres son producidos por los sistemas biológicos, aunque también se encuentran de manera exógena, sabemos que son los principales causantes de trastornos crónico degenerativos, mutagénesis, carcinogénesis, trastornos cardiovasculares y el proceso de envejecimiento. Los antioxidantes son compuestos que funcionan como combatientes de los radicales libres, interviniendo en el proceso de estrés oxidativo.<sup>123</sup>

Se preparó una solución metanólica al 0.004% del radical estable 2,2-difeníl-1-picrilhidrazilo (DPPH) de Sigma, reactivo de color morado intenso.

Se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de absorbancia del radical DPPH 100  $\mu$ M. Con una longitud de onda de 517 nm se homogeneizó en vórtex, se mantiene en un frasco de vidrio ámbar en la oscuridad durante 30 min. La medida de absorbancia fue de 517 nm.<sup>125</sup>

Se realizaron diluciones del extracto hidroalcohólico y el extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. de 1000 mg, 500 mg, 125 mg, 62.5 mg, 31.2 mg, 15.6 mg, hasta 7.8 mg, como control positivo se usó una solución de vitamina E y como control negativo metanol.<sup>123-125</sup>

El extracto hidroalcohólico y el extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. diluidos se mezclaron la solución de DPPH, se usó vitamina E como control positivo antioxidante. Se procedió a leer la densidad óptica en un espectrofotómetro.<sup>124,125,126</sup>

### **6.7.8 Evaluación cualitativa de los compuestos químicos de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

#### **Tamizaje fitoquímico**

Se utilizó el extracto hidroalcohólico y uno acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. para realizar las pruebas fisicoquímicas de caracterización, y cambios de coloración y formación de precipitados, todo esto con la finalidad de la evaluación preliminar cuantitativa de polifenoles, alcaloides, glucósidos y triterpenos.

Se usaron 100 µg de extracto seco hidroalcohólico y 100 µg de extracto seco acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. se disolvieron con agua desionizada y metanol.<sup>127</sup>

### **6.7.9 Prueba fitoquímica de cloruro férrico**

La prueba fitoquímica de cloruro férrico es un método colorimétrico que detecta la presencia de fenoles y taninos de una muestra.

Los taninos son sustancias que se obtienen de algunos vegetales capaces de ocasionar la precipitación de proteínas, se ha reportado que tienen actividades antimicrobianas.<sup>128</sup>

Se pesaron 10 gramos de cloruro férrico y se disolvieron en 100 mililitros de agua destilada caliente y se aforó a 100 ml.<sup>128</sup>

### **6.7.10 Prueba Dragendorff**

La prueba de Dragendorff es un método que detecta alcaloides mediante el viraje anaranjado, se utiliza en fitoquímica y farmacognosia para revelar alcaloides y sustancias nitrogenadas.<sup>129-132</sup>

Primera solución: se disolvieron 0.85 g de nitrato de bismuto, en una sustancia que contenía una mezcla de ácido acético glacial, y 40 ml de agua.

Segunda solución: se disolvieron 8 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua desionizada.<sup>129-132</sup>

El reactivo se preparó realizando una mezcla de 5ml de la primera solución y 4 ml de la segunda solución y 100 ml de agua desionizada.<sup>129-132</sup>

Se utilizaron dos viales, uno con el extracto de roble de hidroalcohólico y uno con extracto de roble acuoso de roble cada uno con 5 µg de extracto disuelto en agua desionizada, se le agregó en reactivo de Dragendorff y se visualizó presencia o ausencia de viraje, para determinar si existe presencia de alcaloides se debe observar un precipitado naranja o rojizo.<sup>129-132</sup>

#### **6.7.11 Prueba Liebermann-Burchard**

La reacción de Liebermann-Burchard para desarrollar un método colorimétrico cuantitativo sencillo, confiable, consistente para analizar la presencia de colesterol, alternativa de métodos cromatográficos.<sup>133,134</sup>

El reactivo de Liebermann-Burchard (LBR) se preparó con el método de 1 ml de cloroformo mezclado con 1 ml de ácido sulfúrico, se pipeteo 50 ml de anhídrido acético en un frasco ámbar de vidrio, a temperatura ambiente, posteriormente se pipeteo 50 ml de anhídrido acético y se agregaron en el frasco.

Para la Identificación del fitoesterol se realizaron soluciones con 100mcg del extracto hidroalcohólico de roble y 100 µg del extracto acuoso de roble en sus respectivos viales, se disolvieron con agua desionizada y con metanol, se agregó a cada uno de los viales 2 ml del reactivo de Liebermann-Burchard (LBR), se observó viraje tenue.<sup>133,134</sup>

#### **6.7.12 Prueba Fehling**

La determinación de carbohidratos es una prueba química de rutina en la industria de los alimentos o en la investigación que permite determinar los azúcares que pueden asimilarse metabólicamente.<sup>135-137</sup>

En viales de cristal se colocaron 100 µg de extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl. y 100 µg del extracto seco acuoso, como control positivo se colocó una vial con solución glucosada, dichos viales se cubrieron con una solución de reactivo Fehling al 50 % disuelto con agua desionizada.<sup>135-137</sup>

La preparación consistió del reactivo de Fehling realizar una disolución de 3.5 gramos de sulfato de cobre pentahidratado en 50 mL de agua destilada. Esto se mezcló con una disolución de 17.3 gramos de tartrato sódico-potásico y 5 gramos de hidróxido de sodio en agua destilada, se mezclan ambas disoluciones en 50 ml de agua. La reacción de Fehling con azúcares reductores, produce viraje rojizo brillante, esta reacción produce depósitos de óxido cúprico que permite la observancia de la coloración anteriormente mencionado.<sup>135-137</sup>

#### **6.7.13 Determinación de saponinas**

La prueba de espuma en panal se usa para determinar la presencia de saponinas en una sustancia.<sup>132,138,139</sup> Las saponinas son metabolitos derivados secundariamente de los glucósidos anfífilos producidos por las plantas, los cuales tienen propiedades espumantes.<sup>140</sup>

#### **6.7.14 Cultivos bacterianos (periodontos patógenos)**

Se utilizaron cuatro cepas bacterianas, estas bacterias se cultivaron *Actinomyces israelii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo *b*, *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, proporcionadas por el laboratorio de genética molecular de la División de Estudios de Posgrado e Investigación odontológica de la universidad Nacional autónoma de México, estas cepas se cultivaron en placas de agar enriquecidas HK, con agar infusión cerebro corazón 26 g/L, se mezclan el agua destilada, con los 20 g/L de Agar de soya Tripticaseina, 13 gr de Brain Heart Infusión Agar y los 5 gr de Yeast extract.<sup>141</sup>

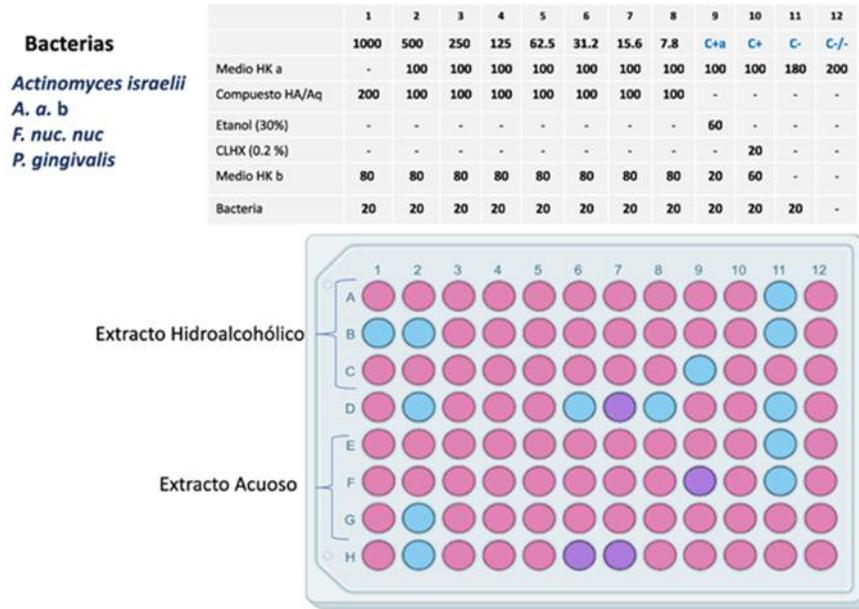
Antes de vaciar el medio en las cajas Petri se agregan los 5ml de vitamina K y los 25 ml de sangre de carnero desfibrinada, esto se disuelve completamente en el matraz y se procede al vaciado del medio en las cajas de agar. Se sembraron las bacterias en la caja de Petri y se introdujeron en la incubadora a 35°C en condiciones anaeróbicas al 80%N, 10%CO<sub>2</sub> y 10% de N<sub>2</sub>, las cepas se incubaron por 5 días, para la experimentación se usaron cultivos puros de cada una de las cepas.<sup>141</sup>

#### **6.7.15 Evaluación del efecto antimicrobiano de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

La susceptibilidad bacteriana a los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. Se determinó por medio del método de difusión en disco, midiendo el diámetro de las zonas de inhibición, la concentración mínima inhibitoria y las unidades formadoras de colonias.

#### **6.7.16 Método de microdilución en placa (Concentración mínima inhibitoria)**

El método de concentración mínima inhibitoria (CMI) es la concentración más baja de un antimicrobiano o sustancia antiséptica, que puede inhibir el crecimiento bacteriano o de microorganismos después de la incubación. Los laboratorios usan las CMI para la confirmación de la resistencia, también se usa como un método auxiliar para la investigación y determinación de la actividad in vitro de nuevas sustancias antimicrobianas.<sup>142</sup> Obsérvese figura para la obtención de concentraciones mínimas inhibitorias. Véase figura 9.



**Figura 9. Ensayo para la obtención de las concentraciones mínimas inhibitorias.**

Después de sembrar y cultivar las bacterias se sacaron de la incubadora y se realizó un raspado de las placas de cada una de las cepas bacterianas para determinar la densidad óptica OD=1 (1=600 nm), se colocaron en tubos de eppendorf, se dispersó y agitó la suspensión con un vortex, con la finalidad de homogeneizar, se hicieron diluciones hasta obtener una densidad óptica OD= 1(10<sup>9</sup> cel/mL), se realizaron diluciones de los extractos como se indica en el diagrama, se realizaron diluciones seriadas para obtener una suspensión de 10<sup>7</sup>. hasta tener los pozos de la placa a un volumen de 200 µL, las cajas se incubaron por 24 horas, en condiciones anaeróbicas posteriormente se realizó el sembrado de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias para el conteo de la Unidades Formadoras de Colonias.<sup>141,143,144,145</sup>

Se realizó una correcta técnica de siembra con una pipeta multicanal por triplicado en cuatro placas de agar, el recuento de las unidades formadoras de colonias se realizó utilizando un asa de 0,001mL.<sup>112</sup>

### **6.7.17 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de los compuestos de Roble (antibiograma)**

La susceptibilidad bacteriana a los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. se determinó por medio del método de difusión en disco, midiendo el diámetro de las zonas de inhibición.<sup>143,144</sup>

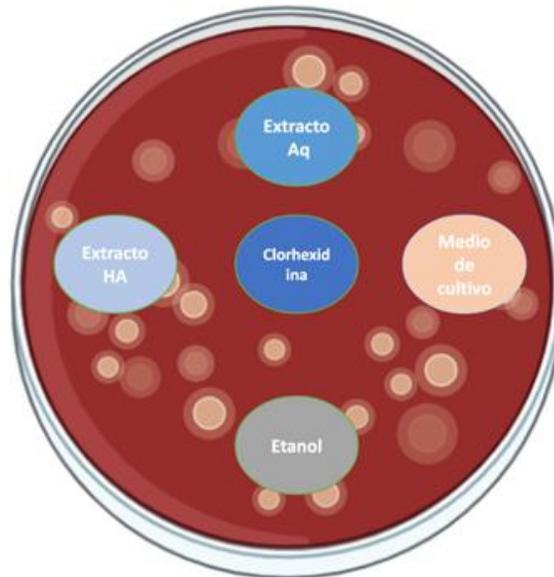
El método de difusión en disco es el más usado también se reconoce como prueba de Kirby-Bauer, su uso principalmente es adecuado para los microorganismos cuyo crecimiento es acelerado, el procedimiento consiste en la colocación de discos impregnados con antibióticos en las placas de agar inoculadas con las bacterias que se están investigando, después de la incubación de 16 a 18 horas se mide el diámetro de inhibición que rodea a cada disco.<sup>142-146</sup>

Del tubo con la dilución de  $10^8$  cel/mL se introdujo un hisopo estéril y se dejó 10 segundos para que se absorbiera después se sembró con la técnica de pasto en el agar enriquecido, posteriormente se impregnaron discos de papel filtro con el extracto hidroalcohólico y acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. Clorhexidina al 0.20%, etanol y medio de cultivo.<sup>142-146</sup>

Los antibiogramas de cada bacteria se realizaron por triplicado y los discos se acomodaron sobre el agar de las cajas de Petri como se muestra en la siguiente figura.

La lectura se realizó midiendo el halo de inhibición bacteriana de cada uno de los discos del triplicado. Véase figura 10.

**Figura 10. Experimento de antibiograma para determinación de susceptibilidad de los compuestos de *Quercus crassifolia* Bonpl.**



#### **6.7.18 Elaboración de enjuague bucal**

La elaboración del enjuague bucal se realizó con el extracto hidroalcohólico estéril de *Quercus crassifolia* Bonpl. debido que presentó mejores resultados en las pruebas microbiológicas, se mezclaron 14.5 ml con agua inyectable estéril 200ml, en fracaso de cristal estéril, se mantuvo en refrigeración a 4°C.<sup>147</sup>

#### **6.7.19 Experimentación *in vivo*, toma de información periodontal clínica, sangrado al sondeo, nivel de inserción, profundidad de bolsa, placa dentobacteriana.**

El nivel de inserción clínica y la profundidad de bolsa se usan con la finalidad de analizar y definir los estadios o la gravedad de las enfermedades periodontales, ya que permiten registrar los cambios de la condición periodontal a lo largo del tiempo. La profundidad de bolsa mide cuantitativamente la pérdida de tejido sin tener en cuenta la presencia de los cambios en el nivel del margen gingival, es decir recesión

gingival o sobrecrecimiento de la encía. Sin embargo, el Nivel de inserción se considera un mejor parámetro diagnóstico de las enfermedades periodontales.<sup>148</sup>

#### **6.7.20 Profundidad al sondeo**

El sondeo periodontal se obtiene por medio de un registro en un periodontograma en seis sitios, mesial, medio y distal tanto en bucal como en lingual o palatino, se realiza con una sonda periodontal Carolina del Norte milimétrica, UNC-15, la cual se introduce en el surco periodontal, se coloca paralela al eje longitudinal del diente con una presión de 25 gramos, se mide del margen gingival a la punta de la sonda.<sup>114,115</sup> Véase imagen 1.



**Imagen 1. Fotografía que muestra la técnica de sondeo periodontal.**

#### **6.7.21 Sangrado al sondeo**

El registro y el porcentaje de sangrado al sondeo se obtiene por medio del uso de una sonda periodontal estandarizada, Carolina del Norte no. 15, Hu-Friedy, introduciéndose en el surco gingival, en seis sitios de cada uno de los dientes presentes en boca, se registra en zona mesial, medial y distal por bucal y lingual o

palatino, con una fuerza de 0.25 Newtons, se obtiene el porcentaje de sangrado.<sup>114,115</sup>

#### **6.7.22 Registro de placa dentobacteriana**

Método que permite cuantificar el porcentaje de placa dentobacteriana para la evaluación de la higiene bucal.

El registro y el porcentaje de placa dentobacteriana se obtiene por medio de la observación de la presencia o ausencia de esta, se registra en seis sitios de cada uno de los dientes presentes en boca, se registra en zona mesial, medial y distal por bucal y lingual o palatino, se asigna un 1 a la presencia de placa dentobacteriana o 0 a la ausencia de placa dentobacteriana.<sup>116,117</sup>

#### **6.7.23 Nivel de inserción periodontal**

El nivel de inserción periodontal es la distancia que se mide con una sonda periodontal estandarizada de la unión cemento esmalte al fondo de la bolsa periodontal o surco, se puede cuantificar sumando la profundidad al sondeo más la recesión gingival o bien la profundidad al sondeo menos la hiperplasia gingival.<sup>114,115</sup>

#### **6.7.24 Instrucciones de uso del enjuague bucal de extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl. (enjuague A) y de clorhexidina al 0.12% (enjuague B)**

Para el uso de ambos enjuagues se asignaron las siguientes indicaciones:

1. Agitar el enjuague antes de usarlo.
2. Realizar el enjuague bucal cada 12 horas.
3. Realizar el enjuague bucal media hora después del cepillado dental.
4. Deberá realizar enjuague profuso y gárgaras durante un minuto, con el vaso dosificador usar 7.5mL, no diluir o agregar agua.
5. En caso de tener irritación, molestia y ulceración deberá comunicarse para dar tratamiento a la sintomatología.

6. No consumir alimento hasta una hora después de haber realizado el enjuague.
7. No ingerir el enjuague bucal.
8. Mantenerlo lejos del alcance de los niños.
9. Conservar los enjuagues en el refrigerador después de su uso.

#### **6.7.25 Método citoma, evaluación de citotoxicidad**

El método citogenético de citoma de micronúcleos bucales (BMcyt) se ha considerado de mínima invasión debido a que particularmente es usado en las células bucales y sirve para evaluar y medir el daño genético, la diferenciación y proliferación celular, apoptosis, en células bucales que se han exfoliado, medición del daño celular y biomonitorio de la inhalación o exposición local a sustancias genotóxicas, además se ha usado para evaluar el estado nutricional y las condiciones de vida y su asociación sobre el ADN.<sup>99,100</sup>

Procedimiento:

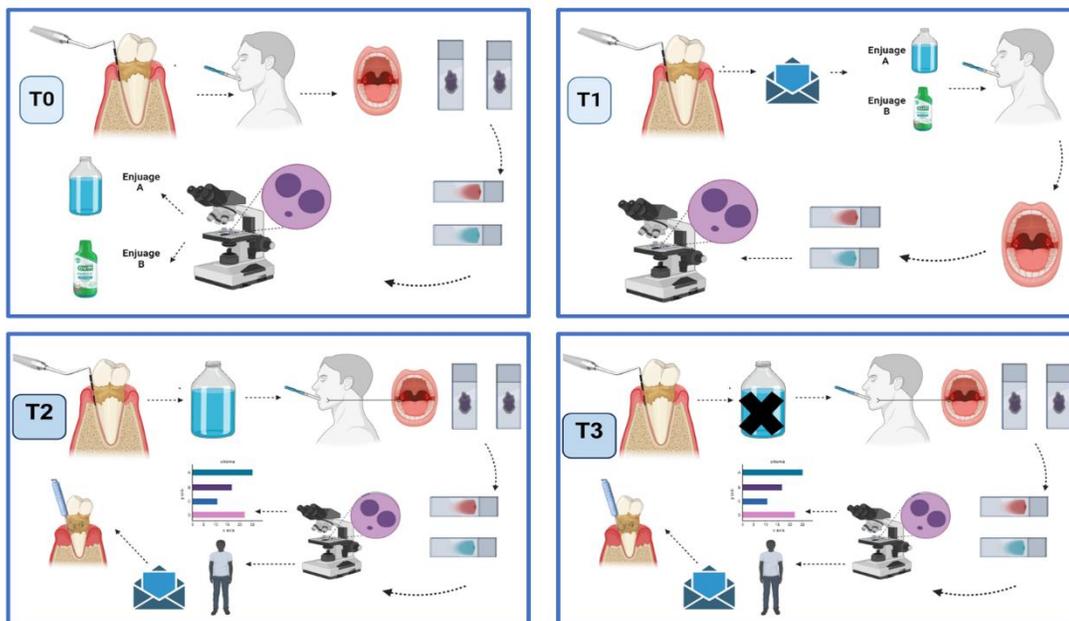
Se tomó la muestra de las células epiteliales con el siguiente proceso: El paciente se enjuagó la boca durante 1 minuto con solución salina fisiológica (SSF) tibia, se le pidió que abriera la boca y con un cepillo citológico estéril, previamente embebido en SSF, se raspó gentilmente pero de manera firme sobre la mucosa yugal, tomando una cantidad considerable de células, las cuales se extenderán sobre la laminilla que contendrán dos gotas de solución salina fisiológica SSF y se dejaron secar al aire, se prepararon 3 muestras por cada carrillo por cada tiempo (T0, T1, T2 y T3).

T0= Previo al uso de enjuagues, T1=Una semana después del uso de los enjuagues, T2= Toma de muestra a los 15 días de uso de enjuague bucal, T3= 15 días después del uso del enjuague, fase de valoración.

Posterior a la toma de muestra, se fijaron las laminillas en solución de Carnoy por 30min, se dejarán secar al aire por lo menos por 24 horas, para realizar posteriormente la tinción de Feulgen, tinción específica para ADN, cuya finalidad es evitar la clasificación errónea de cuerpos no nucleares, bacterias o gránulos de queratohialina. Cuando la laminilla este teñida, las células epiteliales serán observables con un núcleo teñido con coloración magenta y el citoplasma de color

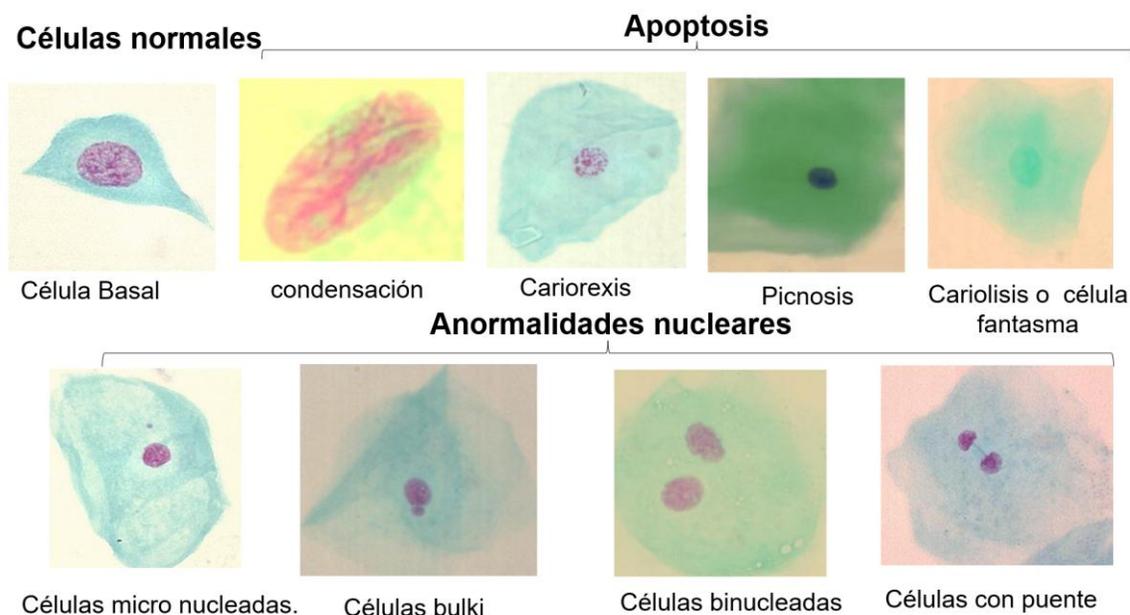
verdoso, se clasificarán 1000 células epiteliales por individuo de acuerdo a la morfología del núcleo por medio de los criterios de Bolognesi y colaboradores (2013):<sup>99,100</sup> Véase figura 11.

1. Célula diferenciada con normalidad.
2. Célula apoptótica con pinocitosis (Alta condensación nuclear e hiper cromático).
3. Célula apoptótica con condensación de la cromatina (patrón de tinción rayado en el núcleo).
4. Célula apoptótica con cariorrexis (Núcleo vacualizado).
5. Célula con cariólisis (Ausencia de núcleo).
6. Células micronucleadas.
7. Células binucleadas.
8. Células bulki.
9. Células con puente.<sup>99,100</sup> Véase figura 12.



**Figura 11. Ensayo de citoma. T0 (Día 0) representa la toma de muestras de células epiteliales de la mucosa yugal sin uso de enjuague bucal, valoración inicial periodontal, e inicio de tratamiento de periodontitis. T1(Día 8) toma de muestra de células epiteliales con el uso de enjuagues bucales de Quercus**

*crassifolia* Bonpl. y grupo control, inicio de Raspado y alisado radicular. T2 (Día 15) toma de muestra de células epiteliales con el uso de enjuagues bucales del grupo que usó enjuague de extracto de *Quercus crassifolia* Bonpl. y grupo control con clorhexidina de uso comercial. T3 (día 30), toma de muestra de células epiteliales y revaloración periodontal.



**Figura 12.** Imágenes obtenidas del artículo de Bolognesi y colaboradores (2013)<sup>99</sup>, método citoma, observación microscópica de células normales, células en estado apoptótico y anomalías nucleares.

### 6.8 Análisis Estadístico

Se realizó análisis estadístico de la evaluación del efecto antioxidante y antibacteriano de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl, (la evaluación de los resultados del ensayo de DPPH, antibiograma y de las concentraciones mínimas inhibitorias) fue realizada con prueba t de Student.

Para el análisis de los biomarcadores clínicos se usó de Chi<sup>2</sup>.

Para la evaluación de citotoxicidad se usó una prueba no paramétrica de Wilcoxon suma y rango, y de Shapiro Wilks, todas las pruebas estadísticas se realizaron en STATA.

## VII RESULTADOS

### 7.1 Resultado de la identificación del árbol de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. y obtención de la muestra, secado y trituración de la corteza

La planta fue identificada por parte del Departamento de Botánica del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, cuyo espécimen se encuentra en el Herbario Nacional de México (MEXU), con número de catálogo 183420, *Quercus crassifolia* Bonpl.

Figura 13. Obtención y procesamiento de la muestra.

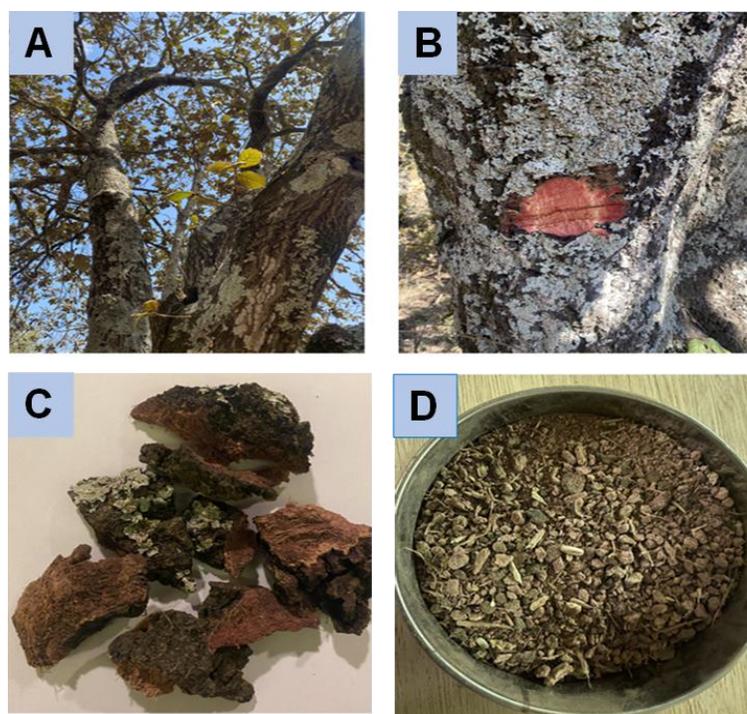
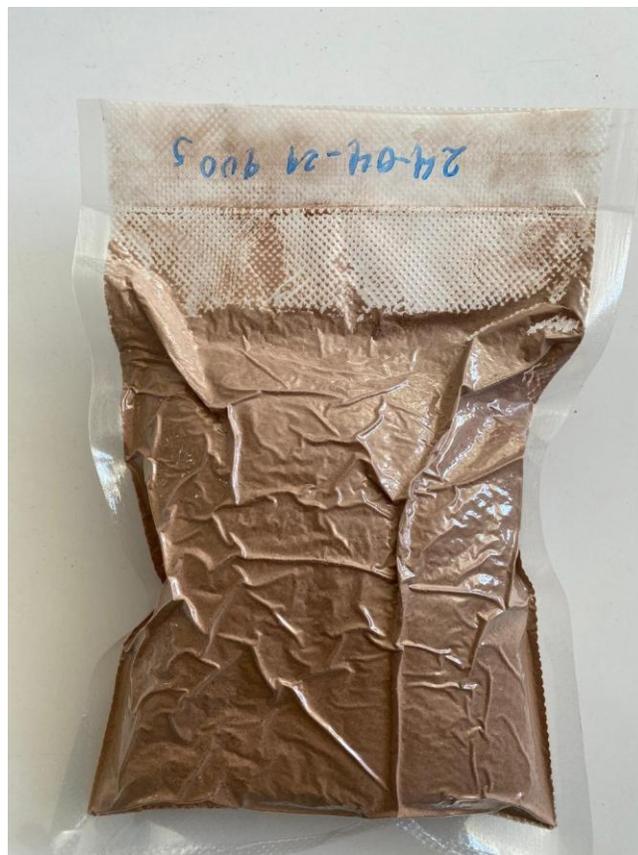


Figura 13. Obtención y procesado de la muestra. A) Identificación del árbol de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. Recolección de la muestra de la corteza de Roble *Quercus crassifolia* Bonpl. B) Secado de la muestra. C) Astillado de la muestra D) Triturado de la muestra de corteza.

Se obtuvieron 15kg de corteza de roble, al finalizar el secado se obtuvieron 10kg de la corteza, Véase figura 13, el almacenamiento de la muestra se realizó una vez obtenida la harina de roble, esta fue empaquetada al vacío, pesada con una pesa analítica, cada empaque fue fechado y contenía 100 mg de harina. Véase figura 14.

**Figura 14. Empaquetamiento al vacío de harina de roble.**

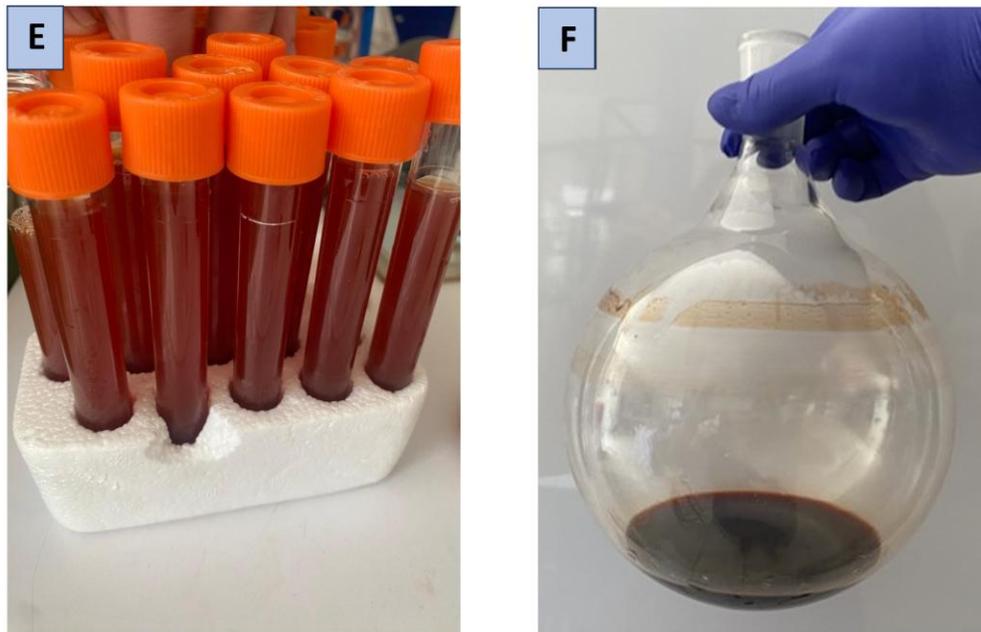


## **7.2 Resultados de la obtención de un extracto hidroalcohólico y un extracto acuoso de roble de la especie *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Se obtuvieron dos extractos de *Quercus crassifolia* Bonpl. uno hidroalcohólico y otro acuoso, este último presentó el mayor rendimiento de 590mL, con una densidad 1.022mL, su coloración es café oscuro rojizo, con sabor astringente. El extracto

hidroalcohólico presentó un rendimiento menor respecto al extracto acuoso de 100mL, densidad de 1.083g/mL, coloración ámbar oscuro, con sabor amargo terroso y astringente. Véanse figura 15 y tabla 10.

**Figura 15. Obtención de los extractos hidroalcohólico y acuoso de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl.**



**Figura 15. Obtención de extractos de *Quercus crassifolia* Bonpl. (E) extracto acuoso, (F) extracto hidroalcohólico de roble.**

**Tabla10. Resultado del rendimiento de los extractos hidroalcohólico y acuoso de Roble *Quercus crassifolia* Bonpl y sus características organolépticas**

Extracto	Rendimiento	Densidades	Color	Sabor
<b>Acuoso</b> 	590 mL	1.022g/mL	Café oscuro, rojizo	Astringente
<b>Hidroalcohólico</b> 	100mL	1.083g/mL	Ámbar oscuro	Amargo, terroso, astringente

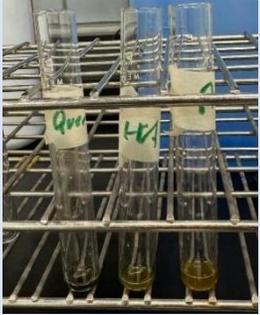
### 7.3 Resultado del análisis cualitativo de los compuestos químicos del extracto acuoso e hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl.

#### Resultados de las cuatro pruebas fitoquímicas colorimétricas:

- La primera corresponde a cloruro férrico, en la cual hubo una respuesta positiva a presencia de polifenoles, respuesta colorimétrica verdosa- azulada similar al control quercetina, lo que indicó que ambos compuestos de roble, presentan polifenoles.
- La segunda prueba fue Dragendorff, fue negativa, lo cual indica que ambos extractos de roble no contienen alcaloides.

- Los resultados de la tercera prueba Lieberman-burchard, dio como resultado que ambos compuestos son positivos a fitoesterol.
- La cuarta prueba Fehling, presentó como resultado que ambos extractos de roble son positivos a la presencia de glucósidos.
- La prueba de espuma fue positiva lo que indica la presencia de saponinas. Véase tabla 11.

**Tabla 11. Resumen de los resultados de las pruebas colorimétricas para determinación de los posibles compuestos químicos de los extractos de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

<b>Reactivo/prueba</b>	<b>Resultado</b>	<b>Presencia</b>	<b>Fotografía</b>
<i>Cloruro férrico</i>	Positivo	Polifenoles	
<i>Dragendorff</i>	Negativo	Alcaloides	
Liebermann-Burchard	Positivo	Fitoesteroles	

<i>Fehling</i>	Positivo	Glucósidos	
<i>Prueba de espuma</i>	Positivo	Saponinas	

#### 7.4 Evaluación del efecto antibacteriano en cuatro cepas periodontopatógenas.

Los resultados obtenidos de la evaluación del efecto antimicrobiano de los extractos hidroalcohólico y acuoso de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl. por inhibición de halo bacteriano y comparación de medias por prueba estadística de t de Student. dieron como resultado que la clorhexidina (CHX) contra los extractos HA Y AQ fue significativamente más efectiva que ambos extractos tanto el HA como el AQ, en las cuatro especies bacterianas *A. israelii*, *A. actinomycetemcomitans* serotipo b, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* debido a que el valor de P fue ( $p < 0.01$ ). En cuanto a la comparación de los extractos HA Y AQ, indicó que el extracto hidroalcohólico HA es superior a el extracto acuoso AQ en todas las especies bacterianas, aunque solo fue estadísticamente significativo en *A. actinomycetemcomitans* serotipo b ya que el valor de P 0.0399 y en la inhibición de los halos de crecimiento bacteriano de *F. nuc. nuc.* ya que el valor de  $p < 0.0377$ .

El grupo de etanol no presentó significancia estadística, en la inhibición del halo, en las cuatro especies bacterianas. Véase tabla 12 y 13.

**Tabla 12. Resumen de medias de halos de inhibición de 4 cepas periodontopatógenas, *Actinomyces israelii*, *A. actinomycetemcomitans* serotipo *b*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum*.**

(Promedios de halo de inhibición en mm y significancia estadística)

<b>Especie</b>	<b>CHX</b>	<b>HA</b>	<b>AQ</b>	<b>Etanol</b>	<b>Control (C-)</b>
<i>A. i.</i>	41.0 ± 3.6**	9.0 ± 1.0**	8.0 ± 1.0**	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A.a.</i>	23.3 ± 2.1**	18.7 ± 6.7*	11.0 ± 1.0**	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>P. g.</i>	31.3 ± 4.0**	11.0 ± 1.0**	7.7 ± 1.2**	3.0 ± 5.2	0.0 ± 0.0
<i>F. nuc. nuc.</i>	42.3 ± 2.5**	11.3 ± 0.6**	9.7 ± 0.6**	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

- Media ± Desviación Estándar.
- \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$  (comparado con el control negativo).
- El etanol mostró actividad solo en *P. gingivalis* ( $3.0 \pm 5.2$  mm), pero sin significancia estadística ( $p > 0.05$ ).
- *A.i.* (*Actinomyces israelii*)
- *A.a.* (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo *b*)
- *F. nuc. nuc.* (*Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum*)
- *P. g.* (*Porphyromonas gingivalis*)

**Tabla 13. Comparativa de las medias de halos de inhibición de 4 cepas periodontopatógenas, *Actinomyces israelii*, *A. actinomycetemcomitans* serotipo b, *Porphyromonas gingivalis. gingivalis*, *F. nucleatum nucleatum* y su comparación entre grupos de antimicrobianos y control negativo.**

<i>Especie</i>	<i>Comparación</i>	<i>Valor de p</i>	<i>Significancia</i>
<i>A. israelii</i>	CHX vs HA	0.0052	**
	CHX vs AQ	0.0027	**
	HA vs AQ	0.2254	NS
	HA vs Control	0.0041	**
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	CHX vs HA	0.0399	*
	CHX vs AQ	0.0051	**
	HA vs AQ	0.2216	NS
	HA vs Control	0.0199	*
<i>P. gingivalis</i>	CHX vs HA	0.0074	**
	CHX vs Etanol	0.0043	**
	HA vs AQ	0.1091	NS
	AQ vs Control	0.0075	**
<i>F. nucleatum nucleatum</i>	CHX vs HA	0.0014	**
	CHX vs AQ	0.0020	**
	HA vs AQ	0.0377	*
	AQ vs Control	0.0052	**

- NS: No significativo ( $p \geq 0.05$ ).
- \*  $p < 0.05$ .      \*\*  $p < 0.01$ .

**7.4.1 Resultados del análisis comparativo de las medias de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos Hidroalcohólicos (HA) y Acuosos (AQ) contra cepas bacterianas *A. israelii*, *P. gingivalis*, *A. a. b.*, *F. nuc nuc*.**

Los resultados de las concentraciones mínimas inhibitorias de ambos extractos hidroalcohólico y acuoso de roble *Quercus crassifolia*, indican que el extracto HA mostró mayor efectividad que el extracto AQ en concentraciones de 1000-250mg/ML, en las concentraciones de 62.5-7.8mg/mL el extracto hidroalcohólico mantuvo menor crecimiento bacteriano (UFC, lo cual indica que hay superioridad de resultados del extracto hidroalcohólico que en el acuoso. Véase tabla 14, 15 y figura de la 16-23.

**Tabla 14. Comparativa entre concentraciones mínimas inhibitorias.**

**Efectividad antimicrobiana por concentración (Medias de UFC)**

<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>Extracto AQ (UFC)</b>	<b>Extracto HA (UFC)</b>	<b>Diferencia significativa (p-valor)</b>
1000	0	0	-
500	0	0	-
250	0.25	0	<b>0.0775</b>
125	0.17	0	<b>0.1032</b>
62.5	5.50	0.63	<b>0.0030*</b>
31.2	8.79	1.13	<b>0.0063*</b>
15.6	13.38	1.79	<b>0.0022*</b>
7.8	10.00	17.08	0.8738

**Tabla 15. Comparativa de UFC (Medias)**

<b>Concentración (mg/mL)</b>	<b>HA (UFC)</b>	<b>AQ (UFC)</b>	<b>CHX (UFC)</b>	<b>Etanol (UFC)</b>
1000	0	0	0.04	6.19
62.5	0.625	5.5	-	-
15.6	1.79	13.38	-	-

## Resultados de la efectividad antimicrobiana Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)

Los resultados indican que la clorhexidina mostró mayor efectividad antimicrobiana la media fue de =0.04 UFC, seguido del extracto hidroalcohólico (HA).

El etanol al 30% tuvo una media de 6.19UFC, menos efectivo que el extracto HA.

El control negativo confirmó la esterilidad del ensayo, la media de las UFC fue de 0.02 UFC. Las diferencias significativas de  $p < 0.05$ , la comparación de el extracto HA contra AQ en la concentración de 62.5 mg/mL fue de  $p < 0.0059$ , la diferencia significativa del extracto HA contra el extracto acuoso AQ en la concentración de 31.2 mg/mL fue de  $p < 0.0127$ , en la concentración de 15.6 mg/mL, el extracto HA contra AQ fue de  $p < 0.0045$ . Véase tabla 16 ,17 y figura de la 16-23.

**Tabla 16. Comparación de medias de unidades Formadoras de colonias.**

<b>Concentración</b>	<b>HA</b>	<b>AQ</b>	<b>P</b>
62.5 mg/mL	0.625 UFC	5.5 UFC	<b>p&lt;0.0059</b>
31.2 mg/mL	1.125 UFC	8.79 UFC	<b>p&lt;0.0127</b>
15.6 mg/mL	1.79 UFC	13.38 UFC	<b>p&lt;0.0045</b>

**Tabla 17. Comparativa de control positivo, solvente, medio de cultivo, bacteria.**

<b>Control</b>	<b>UFC Media</b>
<b>Clorhexidina (CHX 0.2%)</b>	0.04 ± 0.29
<b>Etanol 30%</b>	6.19 ± 10.66
<b>Medio de cultivo (C-)</b>	0.02 ± 0.14
<b>Bacterias sin tratamiento (C+)</b>	27.11 ± 18.98

## Concentraciones mínimas inhibitorias *P. gingivalis*

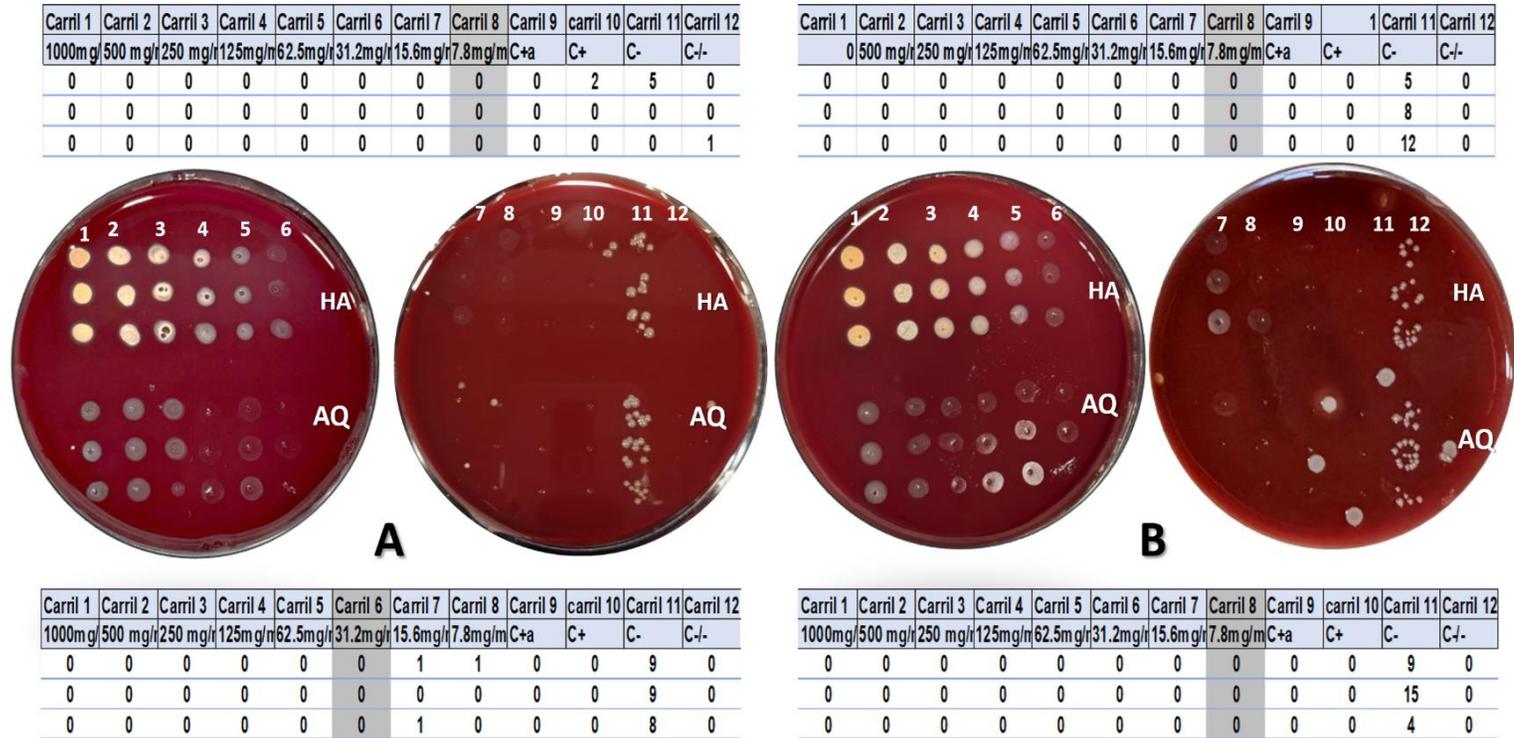


Figura 16. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de *P. gingivalis*, evaluación de diámetro del halo de inhibición. Control positivo CHX clorhexidina, ET etanol, HA extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl., extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.

### *P. gingivalis* antibiograma

Placa A			Placa B			Placa C		
Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio
CHX	32	12	CHX	35	14	CHX	27	10
HA	11	2	HA	12	2	HA	10	2
Aq	7	1	Aq	7	1	Aq	9	1
C(-)	0	0	C(-)	0	0	C(-)	0	0
ET	0	0	ET	9	2	ET	0	0

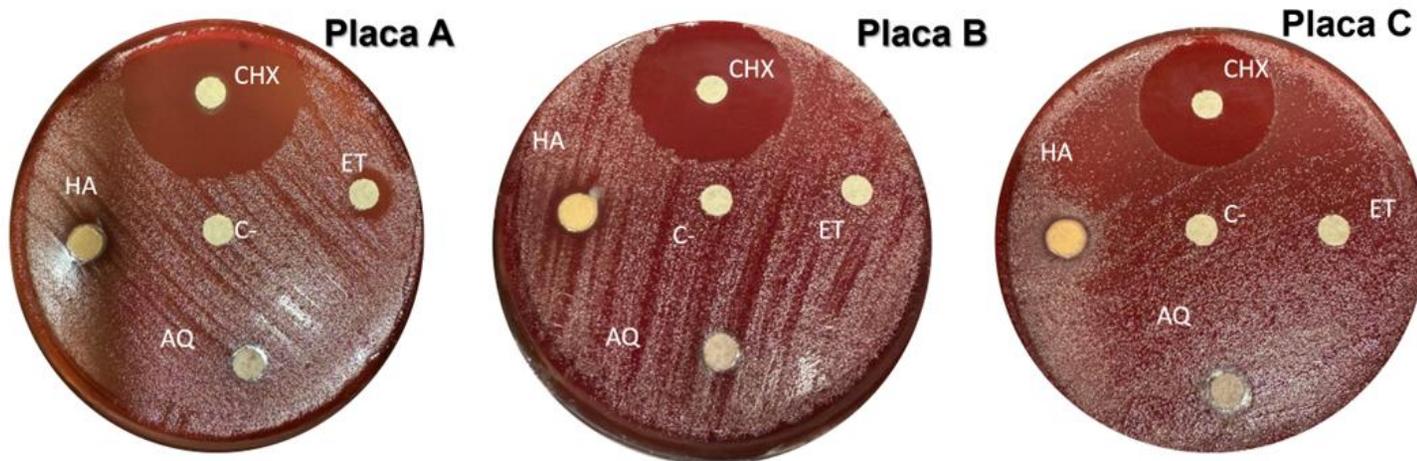


Figura 17. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de *P. gingivalis*, evaluación de diámetro del halo de inhibición. Control positivo CHX clorhexidina, ET etanol, HA extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl., extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.

### *F. nuc. nuc. antibiograma*

Placa A			Placa B			Placa C		
Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio
CHX	40	16	CHX	45	19	CHX	42	19
HA	11	2	HA	12	3	HA	11	2
Aq	10	2	Aq	10	1.5	Aq	9	1
C(-)	0	0	C(-)	0	0	C(-)	0	0
ET	0	0	ET	0	0	ET	0	0

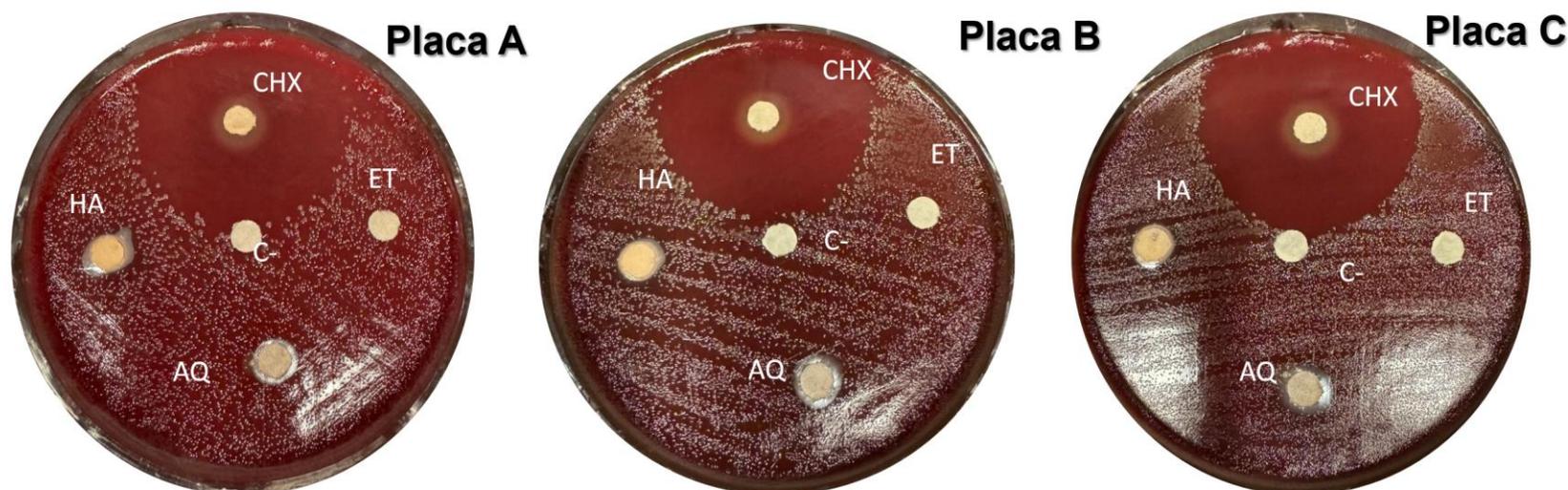


Figura 18. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de *F. nuc. nuc.*, evaluación de diámetro del halo de inhibición. Control positivo CHX clorhexidina, ET etanol, HA extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl., AQ extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.

### Concentración mínima inhibitoria de *F. nuc. nuc.*

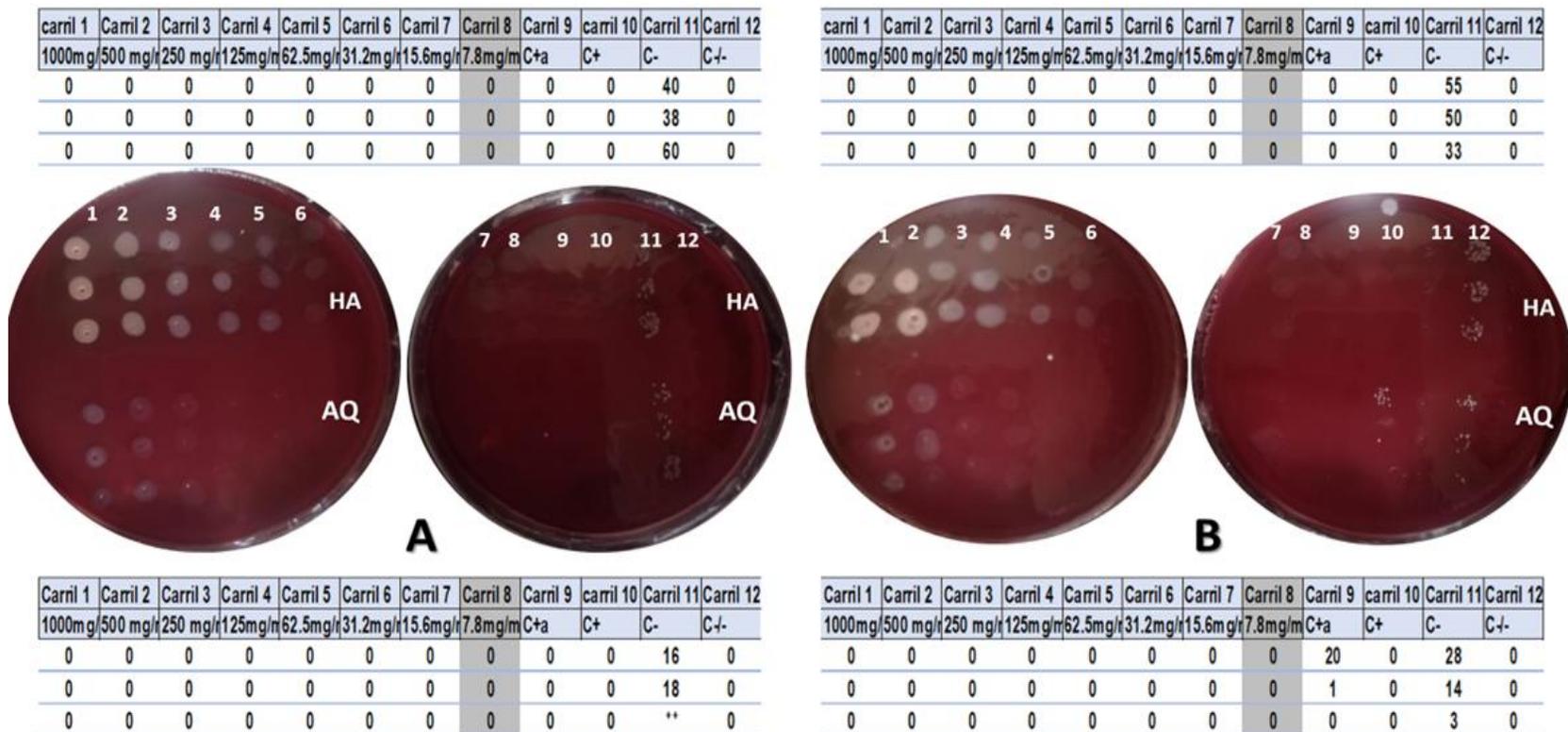


Figura 19. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de *F. nuc. nuc.*, representa el triplicado del extracto de roble hidroalcohólico (HA) y el triplicado del extracto acuoso de roble (AQ) del carril 1 al carril 8, el carril 9 etanol al 30% estéril, carril 10 clorhexidina al 0.20%, carril 11 bacteria y el carril 12 medio de cultivo; placa B representa el duplicado del experimento; los valores numéricos representan las Unidades Formadoras de Colonias bacterianas UFC.

## ***A. a. serotipo b* antibiograma**

Placa A			Placa B			Placa C		
Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio
CHX	24	9	CHX	25	9	CHX	21	9
HA	11	2	HA	22	6	HA	23	8
Aq	12	3	Aq	11	2	Aq	10	1
C(-)	0	0	C(-)	0	0	C(-)	0	0
ET	0	0	ET	0	0	ET	0	0

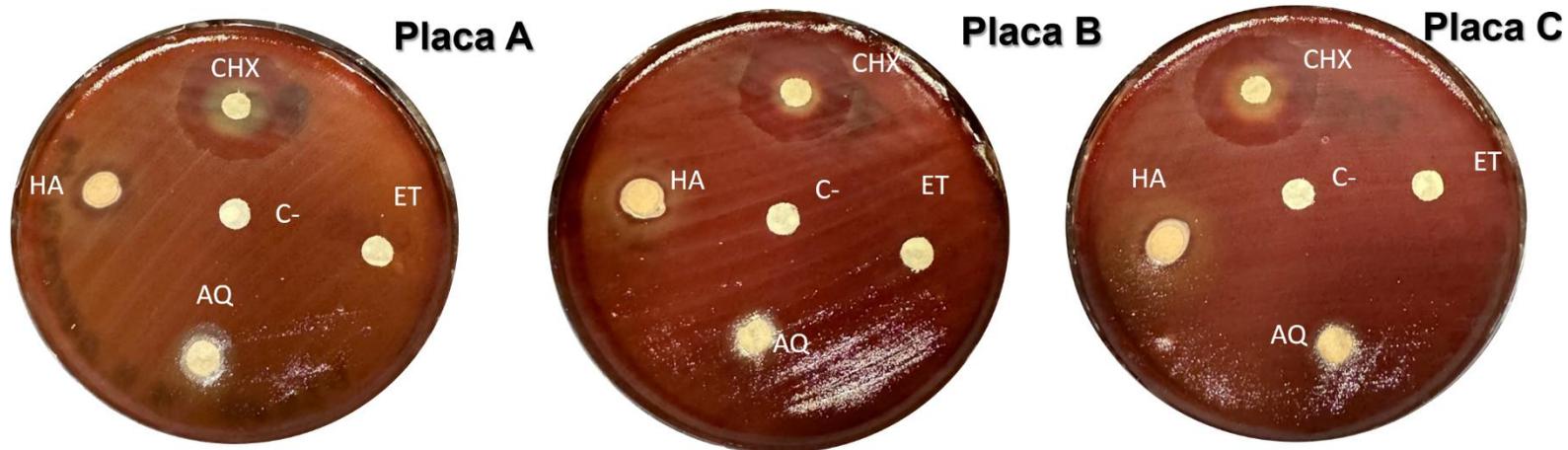
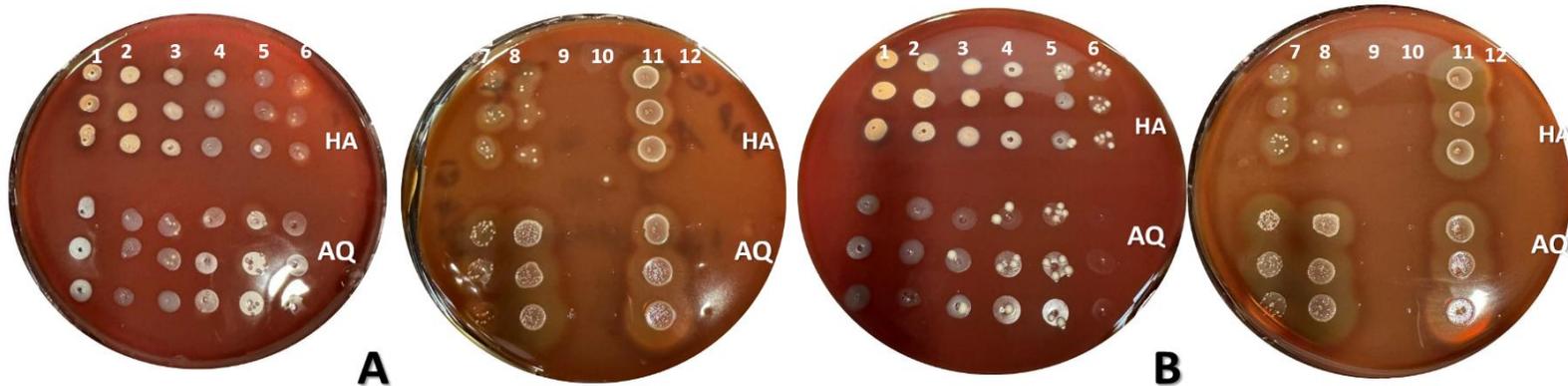


Figura 20. Resultados de halo de inhibición de los antibiogramas por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de *A. a. serotipo b*, evaluación de diámetro del halo de inhibición. Control positivo CHX clorhexidina, ET etanol, HA extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl., AQ extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.

### Concentración mínima inhibitoria A.a. Serotipo b

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	Carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/l	500 mg/l	250 mg/l	125mg/l	62.5mg/l	31.2mg/l	15.6mg/l	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-
0	0	0	0	2	6	7	5	0	0	**	0
0	0	0	0	2	1	7	3	0	0	**	0
0	0	0	0	4	2	6	3	0	0	**	0

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	Carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/l	500 mg/l	250 mg/l	125mg/l	62.5mg/l	31.2mg/l	15.6mg/l	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-
0	0	0	0	5	6	7	2	0	0	**	0
0	0	0	0	0	7	3	1	0	0	**	0
0	0	0	0	2	5	13	2	0	0	**	0



Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	Carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/l	500 mg/l	250 mg/l	125mg/l	62.5mg/l	31.2mg/l	15.6mg/l	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-
0	0	3	1	4	0	20	*	0	0	**	0
0	0	3	0	9	0	15	*	0	0	**	0
0	0	0	3	6	0	9	*	0	0	**	0

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	Carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/l	500 mg/l	250 mg/l	125mg/l	62.5mg/l	31.2mg/l	15.6mg/l	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-
0	0	0	0	5	6	7	2	0	0	**	0
0	0	0	0	0	7	3	1	0	0	**	0
0	0	0	0	0	5	13	2	0	0	**	0

Figura 21. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de A. a. serotipo b, representa el triplicado del extracto de roble hidroalcohólico (HA) y el triplicado del extracto acuoso de roble (AQ) del carril 1 al carril 8, el carril 9 es etanol al 30% estéril, carril 10 clorhexidina al 0.20%, carril 11 bacteria y el carril 12 medio de cultivo; placa B representa el duplicado del experimento, los valores numéricos representan las Unidades Formadoras de Colonias UFC.

### A. *Israelii* antibiograma

Placa A			Placa B			Placa C		
Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio	Disco/sustancia	Halo-Diámetro	Halo-Radio
CHX	40	18	CHX	38	16	CHX	45	19
HA	8	1	HA	10	1	HA	9	1
Aq	7	0.5	Aq	8	1	Aq	9	1
C(-)	0	0	C(-)	0	0	C(-)	0	0
ET	0	0	ET	0	0	ET	0	0

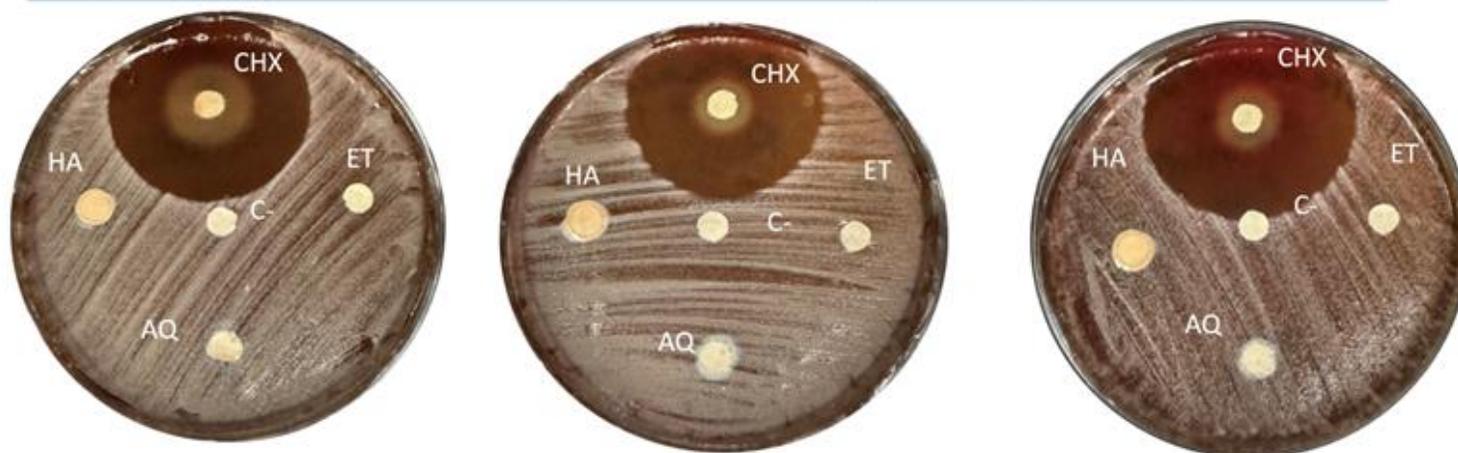
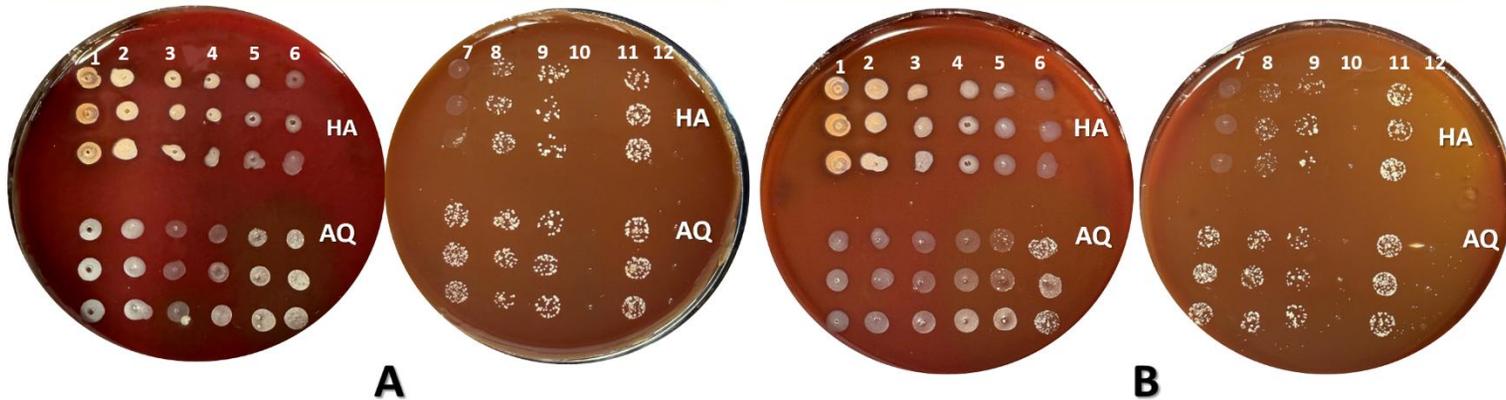


Figura 22. Resultados de antibiograma por triplicado, placa A, Placa B, Placa C de *A. israelii*, evaluación de diámetro del halo de inhibición. Control positivo CHX clorhexidina, ET etanol, HA extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl., AQ extracto acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl.

### Concentración mínima inhibitoria de *A. israelii*

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/500 mg/h	250 mg/h	125mg/n	62.5mg/h	31.2mg/h	15.6mg/h	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-	
0	0	0	0	0	0	0	19	26	0	33	0
0	0	0	0	0	0	0	28	17	0	37	0
0	0	0	0	0	0	0	23	18	0	37	0

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/500 mg/h	250 mg/h	125mg/n	62.5mg/h	31.2mg/h	15.6mg/h	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-	
0	0	0	0	0	0	0	17	19	0	46	0
0	0	0	0	0	0	0	22	22	0	43	0
0	0	0	0	0	0	0	24	14	0	55	0



Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/500 mg/h	250 mg/h	125mg/n	62.5mg/h	31.2mg/h	15.6mg/h	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-	
0	0	0	0	16	34	33	29	18	0	38	0
0	0	0	0	17	38	29	34	28	0	40	0
0	0	0	0	28	32	37	25	27	0	34	0

Carril 1	Carril 2	Carril 3	Carril 4	Carril 5	Carril 6	Carril 7	Carril 8	Carril 9	carril 10	Carril 11	Carril 12
1000mg/500 mg/h	250 mg/h	125mg/n	62.5mg/h	31.2mg/h	15.6mg/h	7.8mg/m	C+a	C+	C-	C-/-	
0	0	0	0	18	30	40	42	23	0	55	0
0	0	0	0	18	20	63	50	28	0	52	0
0	0	0	0	11	39	50	47	36	0	40	0

Figura 23. Resultados del sembrado de la concentración mínima inhibitoria de *A. israelii*, representa el triplicado del extracto de roble hidroalcohólico (HA) y el triplicado del extracto acuoso de roble (AQ) del carril 1 al carril 8, el carril 9 es etanol al 30% estéril, carril 10 clorhexidina al 0.20%, carril 11 bacteria y el carril 12 medio de cultivo; placa B representa el duplicado del experimento, los valores numéricos representan las Unidades Formadoras de Colonias UFC

## **7.5 Evaluación del efecto antioxidante del extracto acuoso e hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

### **Resultados de absorbancia y efecto antioxidante de los extractos de roble, *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los resultados con la prueba t de Student, del efecto antioxidante de los extractos hidroalcohólico y acuoso de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. se explican a continuación, extracto Hidroalcohólico HA con concentración de 500mg/mL la media fue de  $0.357 \pm 0.150$ , con el extracto HA a una concentración de 250mg/mL la media fue  $0.181 \pm 0.026$ , con la concentración del extracto HA de 125mg/mL la media fue de  $0.143 \pm 0.018$ , por lo cual a medida que disminuye la concentración la absorbancia disminuye, la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico también disminuye. la mayor actividad antioxidante entre las concentraciones del extracto hidroalcohólico fue la concentración 500mg/mL.

Se explican a continuación, que el extracto Hidroalcohólico HA con concentración de 500mg/mL presentó una media de  $0.080 \pm 0.013$ mm, los resultados con el extracto HA a una concentración de 250mg/mL la media fue de  $0.068 \pm 0.006$ mm, con la concentración del extracto HA de 125mg/mL la media fue de  $0.074 \pm 0.013$ mm, las concentraciones más altas del extracto acuoso tienen absorbancias altas, lo que indicó que también tiene una actividad antioxidante, sin embargo, la absorbancia es menor en el extracto acuoso respecto al extracto hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. Los resultados indican que la Vitamina E grado reactivo, es un antioxidante que se usa como estándar de oro, de acuerdo a los resultados tiene una absorbancia mucho menor en comparación con los extractos hidroalcohólicos. Véase tabla 18,19.

**Tabla 18. Absorbancia de los extractos hidroalcohólico de roble y acuoso.**

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración</b>	<b>Absorbancia 500 nm X ± D. E</b>
<i>DPPH</i>	0.04%	1.047 ± 0.059
<i>Vitamina E</i>	1 mg/ML	0.0835 ± 0.002
<i>HA</i>	500 mg/mL	0.357 ± 0.150
<i>HA</i>	250 mg/mL	0.181 ± .026
<i>HA</i>	125mg/mL	0.143 ± .018
<i>AQ</i>	500 mg/mL	0.080 ± 0.013
<i>AQ</i>	250 mg/mL	0.068 ± 0.006
<i>AQ</i>	125mg/mL	0.074 ± 0.013
<i>β-Cariofileno</i>	100mg/mL	0.833 ± 0.207

**Resultados de la comparación del efecto antioxidante entre grupos de extractos hidroalcohólico y acuoso de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los resultados obtenidos de la comparación de absorbancia con prueba t de Student entre los diferentes grupos y concentraciones fueron los siguientes: los grupos de comparación de las absorbancias entre Vitamina E y DPPH el valor de P fue de 0.0000, lo cual representa una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al potencial antioxidante; en cuanto a la comparación de absorbancia de Vitamina E contra la concentración del extracto hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. a una concentración de 500 mg/mL el valor de P 0.0072 representa una diferencia estadísticamente significativa, en cuanto a la comparación entre Vitamina E respecto a el extracto hidroalcohólico de roble a una concentración de 250mg/mL el valor de P fue de 0.0005 lo cual nos indicó que la vitamina E tiene un efecto con diferencia estadísticamente significativa que el extracto. La comparación entre el grupo de Vitamina E contra el extracto hidroalcohólico a una concentración de 250mg/mL el valor de P fue de 0.0005 lo cual indica que la vitamina E tuvo un efecto antioxidante significativamente distinto al extracto hidroalcohólico, respecto a la comparación con el extracto hidroalcohólico a una concentración de 125mg/mL el

valor de p fue de 0.0012 también existió una diferencia estadísticamente significativa respecto a la vitamina E.

Para la comparación de absorbancia en los grupos de vitamina E contra las tres concentraciones del extracto acuoso de roble, *Quercus crassifolia* Bonpl. en la concentración de 500 mg/mL tuvo un valor de P de 0.6921 lo cual no representó una diferencia estadísticamente significativa, en cuanto a la concentración de 250mg/mL el valor P fue de 0.0010, si existió una diferencia estadísticamente significativa para dicha concentración, en cuanto a la concentración de 125 mg/mL el valor de P fue de 0.0773 no existió diferencia estadísticamente significativa en comparación a la vitamina E.

En cuanto a los resultados de la comparación entre grupos del extracto hidroalcohólico de roble a una concentración de 500 mg/mL con DPPH el valor de P fue de 0.0001 lo cual indicó una diferencia estadísticamente significativa. La comparación de la misma concentración del extracto hidroalcohólico, pero con vitamina E el valor de P fue de 0.0072 lo cual indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos. Las comparaciones entre la concentración del extracto hidroalcohólico de roble de 500 mg/mL contra concentración de extracto hidroalcohólico de 250mg/mL, 125mg/mL y extracto acuoso de 500 mg/mL los valores de P fueron  $P = 0.0401$ ,  $P = 0.0156$ ,  $P = 0.0067$ , lo cual indica que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

Los resultados de comparación entre las concentraciones del extracto acuoso de roble (*Quercus crassifolia* Bonpl.) fueron para la concentración de 500 mg/mL contra 250mg/mL, el valor de P fue de 0.0812 no hubo diferencia estadísticamente significativa, contra la concentración de 125mg/mL el valor de P fue de 0.4610 lo cual indicó que no hubo diferencia estadísticamente significativa. Véase tabla 19.

**Tabla 19. Comparación entre grupos con diferentes concentraciones de los extractos hidroalcohólico y acuoso de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. contra vitamina E y DPPH (controles).**

<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Valor de *p*</b>	<b>Significancia</b>	<b>Interpretación</b>
<i>DPPH (Control)</i>	Vitamina E	0.0000	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<i>DPPH (Control)</i>	HA 500	0.0001	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<i>DPPH (Control)</i>	HA 250	0.0000	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<i>DPPH (Control)</i>	HA 125	0.0000	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<i>DPPH (Control)</i>	AQ 500	0.0000	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<i>DPPH (Control)</i>	AQ 250	0.0000	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<i>DPPH (Control)</i>	AQ 125	0.0000	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa
<b>Vitamina E</b>	<b>HA 500</b>	0.0072	<b>*p* &lt; 0.01</b>	Dif. significativa (HA 500 < Vitamina E)
<b>Vitamina E</b>	<b>HA 250</b>	0.0005	<b>*p* &lt; 0.001</b>	Dif. altamente significativa (HA 250 < Vit E)
<b>Vitamina E</b>	<b>HA 125</b>	0.0012	<b>*p* &lt; 0.01</b>	Dif. significativa (HA 125 < Vit E)
<b>Vitamina E</b>	<b>AQ 500</b>	0.6921	<b>*p* &gt; 0.05 (NS)</b>	<b>No hay diferencia significativa</b>
<b>Vitamina E</b>	<b>AQ 250</b>	0.0010	<b>*p* &lt; 0.01</b>	Dif. significativa (AQ 250 < Vit E)
<b>Vitamina E</b>	<b>AQ 125</b>	0.0773	<b>*p* &gt; 0.05 (NS)</b>	Tendencia, pero no significativa
<b>HA 500</b>	<b>HA 250</b>	0.0401	<b>*p* &lt; 0.05</b>	Dif. significativa (HA 500 > HA 250)

<b>HA 500</b>	<b>HA 125</b>	0.0156	<b>*p* &lt; 0.05</b>	Dif. significativa (HA 500 > HA 125)
<b>HA 500</b>	<b>AQ 500</b>	0.0067	<b>*p* &lt; 0.01</b>	Dif. significativa (HA 500 > AQ 500)
<b>AQ 500</b>	<b>AQ 250</b>	0.0812	*p* > 0.05 (NS)	Tendencia, pero no significativa
<b>AQ 500</b>	<b>AQ 125</b>	0.4610	*p* > 0.05 (NS)	<b>No hay diferencia significativa</b>

## 7.6 Elaboración de un enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.

Se elaboraron 40 enjuagues bucales de 200 mL con extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl. estéril. El enjuague bucal presentó estabilidad a temperatura a medio ambiente, 40° C, 4° C. cabe mencionar que no presentó cambios de sabor, coloración. Véase figura 24.

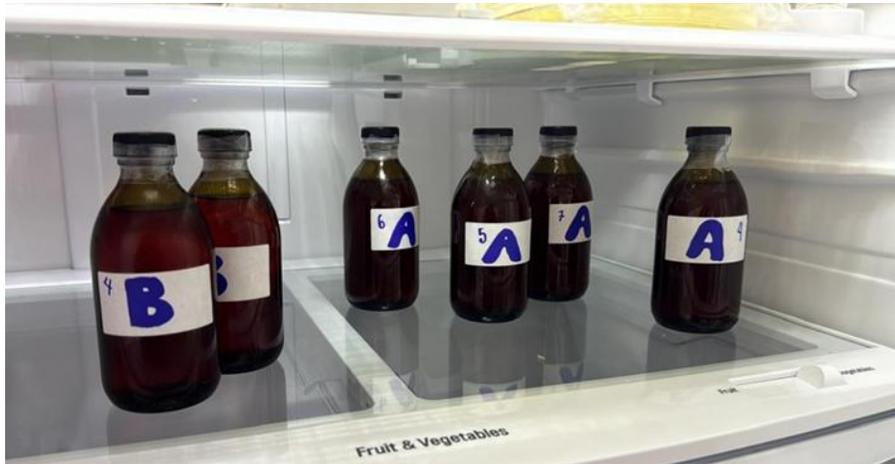
La concentración de peso volumen fue de **0.654% p/v.**, la cual se determinó con la siguiente fórmula:

$$\%p/v = (\text{Masa de soluto en (g)} / \text{Volumen de solución (mL)}) \times 100\%$$

$$p/v = (1.4 \text{ g} / 214 \text{ mL}) \times 100 \approx 0.654\%$$

$$\% p/v = (214 \text{ mL} / 1.4 \text{ g}) \times 100 \approx 0.654\%$$

$$\% p/v = \mathbf{(0.654\%)}$$



**Figura 24. Almacenamiento, refrigeración etiquetada de los enjuagues de roble y CHX al 0.12%.**

## **7.7 Resultados de la respuesta al tratamiento periodontal**

### **Resultados y características demográficas y clínicas iniciales**

El total de los pacientes fue de 32, en el grupo 1 participaron 15 pacientes y para el grupo 2 participaron 17 pacientes, todos los pacientes fueron diagnosticados con periodontitis, la distribución del grado periodontal fue para Grado A del 37.5%, es decir 12 de 32 pacientes, para Grado B fue de 56.25% lo que corresponde en proporción a 18 pacientes de los 32 incluidos en el estudio, Grado C: corresponde sólo el 6.25% de los pacientes es decir 2 de los 32 sometidos a tratamiento periodontal. Con el análisis de  $\chi^2$ , no hubo diferencias significativas entre los grupos 1 y 2 el valor de p fue 0.128.

Respecto a las variables confusas el consumo de alcohol en los pacientes fue de 46.88% es decir 15 pacientes de 32, vacunas recientes recibieron el 18.75% de los pacientes, es decir 6 de los 32 pacientes incluidos en el estudio, el valor de p fue de 0.451 para consumo de alcohol y el valor de p para vacunas recientes de 0.726, sin diferencias entre los grupos. Véase tabla 20.

## **Análisis de Chi<sup>2</sup> para variables categóricas**

El análisis de Chi<sup>2</sup> para variables categóricas indicó que la extensión de la periodontitis entre los grupos fue de 15.63% es decir 5 de 32 pacientes y la extensión generalizada fue de 84.38% fueron 27 de los 32 pacientes incluidos en el estudio.

En cuanto a los grupos analizados se determinó que el grupo de enjuague de roble *Quercus crassifolia* Bonpl, tuvo más casos de periodontitis generalizada, el valor de p fue de 0.010.

La comparación del estadio con respecto al grado encontró una asociación significativa entre los grados más altos que corresponden al B y C, moderada y rápida progresión, correlacionados a los estadios más severos III y IV, con significancia estadística, el valor de p fue de p 0.004.

La extensión de la periodontitis en el grupo roble fue únicamente de casos generalizados, 100% y en el grupo de clorhexidina fue del 66.7% con un valor de p= a 0.0010, si existe una diferencia estadísticamente significativa.

Respecto al grado, aunque no hay una significancia considerable el grupo roble tuvo más casos graves correspondientes al grado C correspondientes al 11.8% con la ausencia de este grado en el grupo clorhexidina.

Aunque no significativo, el grupo de Roble tuvo más casos graves (Grado C: 11.8% contra 0% del grupo clorhexidina. Véase tabla 20.

El éxito general de los 32 pacientes participantes del ensayo clínico fue del 65.6% que fueron diagnosticados al finalizar el tratamiento periodontal no quirúrgico como pacientes con periodonto reducido sano.

El 25% de la población mantuvo su diagnóstico periodontal, esto se debe principalmente a la severidad de la periodontitis y que los pacientes requieren de un tratamiento periodontal quirúrgico. Véase tabla 20.

**Tabla 20. Comparación de diagnóstico inicial y de revaloración periodontal**

<i>Diagnóstico Inicial</i>	Diagnóstico Final	Frecuencia (%)	Diagnóstico Final 32 pacientes)	Frecuencia (%)		Valor de p (Chi <sup>2</sup> )
				Grupo 1 (Clorhexidina) n=15	Grupo 2 (Roble) n=17	
<i>Periodontitis (100%)</i>	Periodontitis activa	8 (25%)	Periodontitis activa	4 (26.7%)	4 (23.5%)	0.834
	Gingivitis	3 (9.4%)	Gingivitis	2 (13.3%)	1 (5.9%)	0.458
	Periodonto reducido sano	<b>21 (65.6%)</b>	<b>Periodonto reducido sano</b>	<b>9 (60%)</b>	<b>12 (70.6%)</b>	0.526

**Resultados de la prueba de Chi<sup>2</sup>, comparación de las variables clínicas.**

Se llevó a cabo una comparación entre las variables clínicas de periodontales iniciales y la revaloración posterior al tratamiento, la media de la variable de número de bolsa de revaloración, en el grupo que usó enjuague bucal de clorhexidina tuvo un valor de p de 0.030, lo cual favoreció al uso del enjuague de roble para el control de bolsas residuales.

Los valores de la media de revaloración de nivel de inserción, en el grupo de roble presentó mayores niveles de nivel de inserción valor de p 0.0416, lo que podría sugerir que hay persistencia de inflamación en la fase de valoración en el grupo roble, la clorhexidina presentó mejoría en los niveles de nivel de inserción clínica NIC. Véase tabla 21.

**Tabla 21. Comparativa: medias Iniciales contra medias de revaloración por grupo (Clorhexidina contra Roble), prueba t de Student.**

<i>Variable periodontal clínica</i>	Grupo 1 (Clorhexidina) Media ± DE)	Grupo 2 (Roble) Media ± DE)	Valor de p (Intergrupo)
-------------------------------------	------------------------------------	-----------------------------	-------------------------

<i>Profundidad de Bolsa (PB)</i>			
● Inicial	3.06 ± 0.89	3.39 ± 0.94	0.3215
● Re-valoración	2.36 ± 0.34	2.56 ± 0.41	<b>0.0307*</b>
<i>Nivel de inserción clínica (NIC)</i>			
● Inicial	2.55 ± 3.32	2.85 ± 2.26	0.7688
● Re-valoración	1.23 ± 1.22	2.23 ± 1.42	<b>0.0416*</b>
<i>% de Sangrado al Sondaje (%SS)</i>			
● Inicial	60.95 ± 32.99	74.34 ± 34.00	0.2687
● Re-valoración	12.82 ± 13.86	23.68 ± 22.48	0.1162
<i>Número de Bolsas Periodontales</i>			
● Inicial	26.67 ± 32.56	36.41 ± 38.88	0.4516
● Re-valoración	8.93 ± 10.07	3.88 ± 3.48	<b>0.0307*</b>
<i>Placa dentobacteriana PLA</i>			
● Inicial	76.40 ± 26.79	78.49 ± 31.90	0.8436
● Re-valoración	31.74 ± 22.21	27.95 ± 18.05	0.5976

## 7.8 Resultado de la evaluación citotóxica por el uso del enjuague de roble

La prueba Shapiro-Wilk indicó que la mayoría de las variables no siguen una distribución normal ( $p < 0.05$ ) por lo tanto se realizó una prueba no paramétrica (Wilcoxon), como alternativa a la prueba t de Student debido a que no se cumplen los supuestos de normalidad.

Las pruebas de Shapiro-Wilk indican que la mayoría de las variables no siguen una distribución normal ( $p < 0.05$ ), lo que justifica el uso de pruebas no paramétricas como la prueba de Wilcoxon rango-suma.

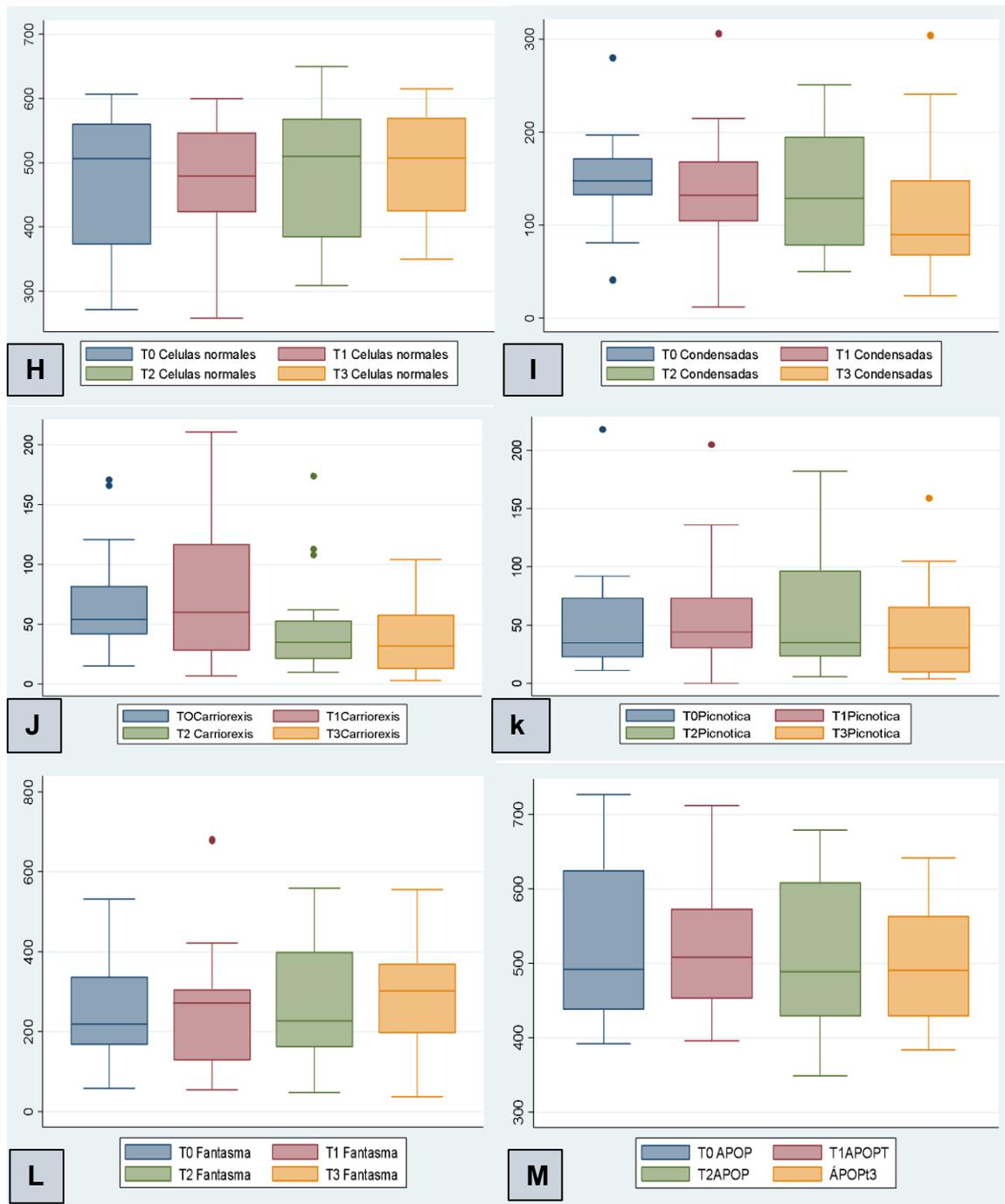
### **Pruebas de diferencias entre grupos (Wilcoxon rango y suma)**

La mayoría de las variables no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y en los diferentes tiempos de medición.

Hubo diferencias estadísticamente significativas en el conteo de células picnóticas en el T1 con un valor de ( $p = 0.0025$ ), en el T2 los resultados de la comparación de medianas de las células picnóticas y fantasmas no presentaron diferencias estadísticamente significativas valor de  $p$  igual a 0.06-0.09 entre ambos grupos tanto de clorhexidina al 0.12% como del enjuague de roble.

Las variables de células micronucleadas, células normales y apoptosis en el T3 no mostraron diferencias marginales significativas, dichos resultados indicaron que no hay superioridad de un tratamiento sobre otro. Véase figura 25-27, grafica 1-4.

**Figura 25. Resultados de las pruebas no paramétricas de células apoptóticas.**

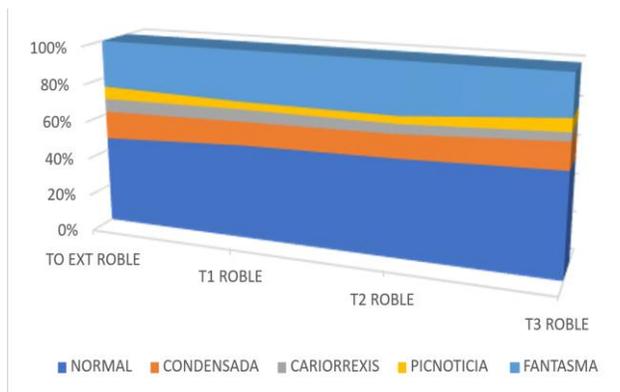


**Figura 25. Cajas y bigotes, representan los resultados no paramétricos de muerte celular, los tiempos de toma de muestras y la comparación de células normales en el grupo de clorhexidina y de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.,**

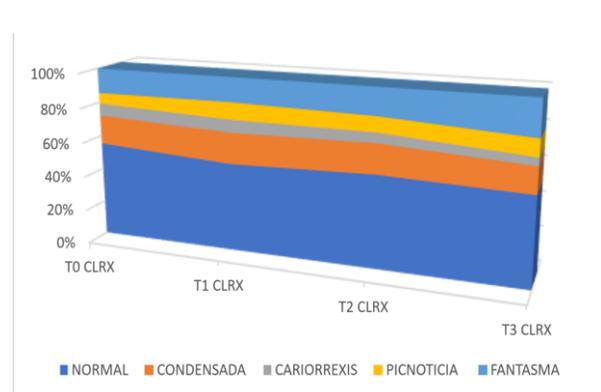
T0 (día cero sin tratamiento) T1 (una semana de uso de enjuague) T2 (15 días de tratamiento) T3 (revaloración). H. representa los 4 tiempos de toma de muestra de células epiteliales de la mucosa yugal y las células normales. I. representa las células condensadas en los cuatro tiempos. J. representación de la distribución no paramétrica de células con cariorexis en los cuatro tiempos. L. representación de las células fantasma en los cuatro tiempos. M. sumatoria de las células apoptóticas en los cuatro tiempos de toma de muestra.

Gráfica 1 y 2. Muestran los resultados del porcentaje de células epiteliales de la mucosa yugal apoptóticas, del tratamiento con roble y clorhexidina.

Gráfica 1. Enjuague de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.



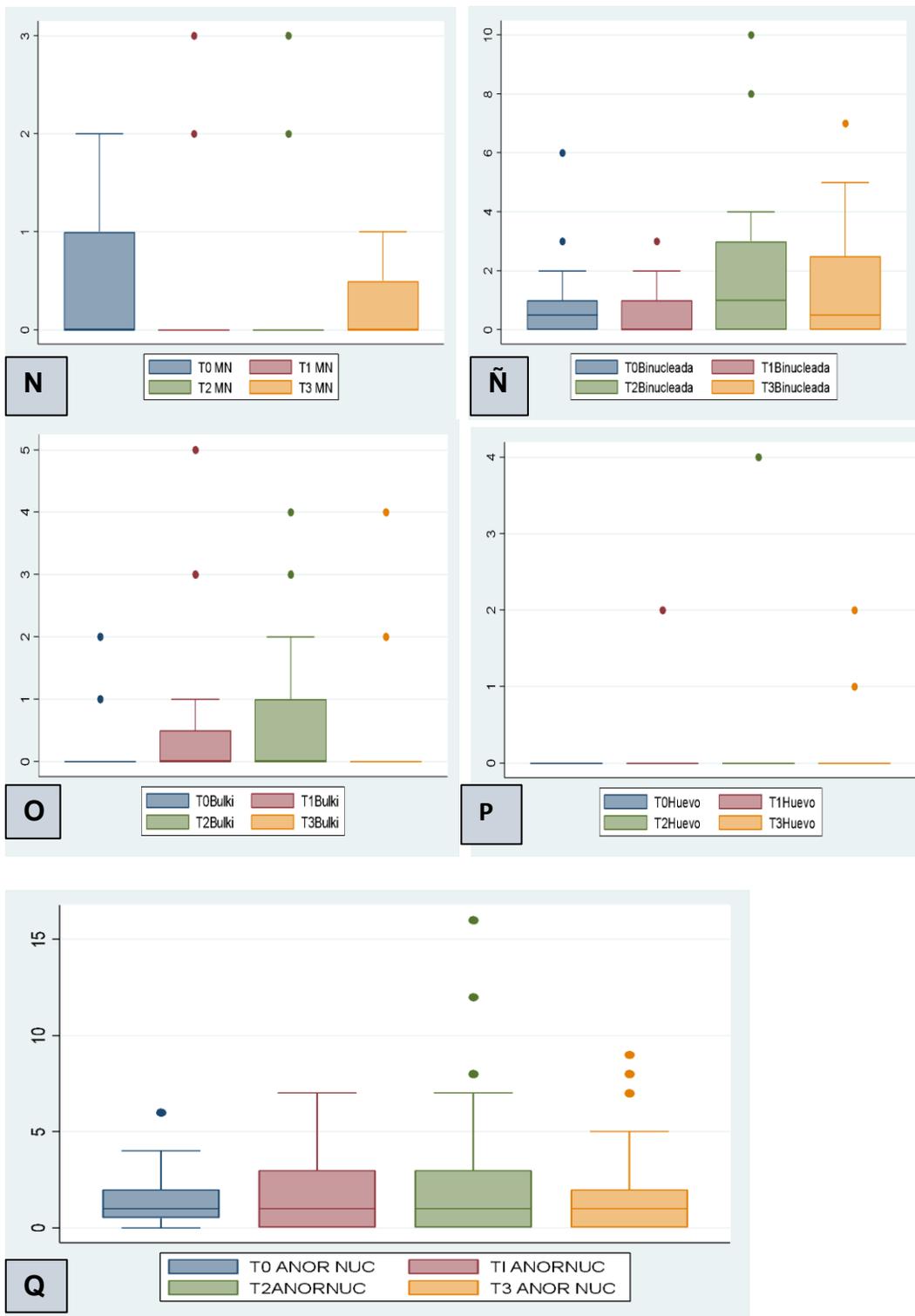
Gráfica 2. Enjuague de clorhexidina al 0.12%.



Gráfica 1. Representa el porcentaje de células apoptóticas en el tratamiento con enjuague de roble.

Gráfica 2. Representa el porcentaje de células apoptóticas en el tratamiento con enjuague de clorhexidina.

Figura 26. Resultados de las pruebas no paramétricas de células con anomalías nucleares.

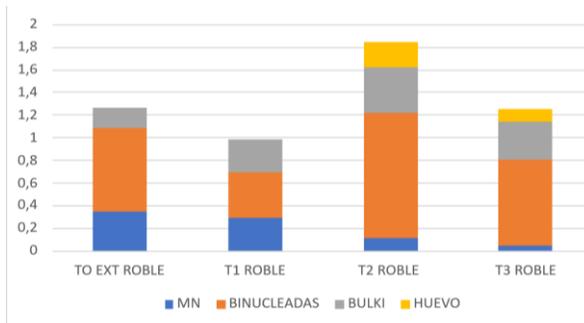


**Figura 26. Resultados de las pruebas no paramétricas de células con anomalías nucleares, representan los resultados de las células con**

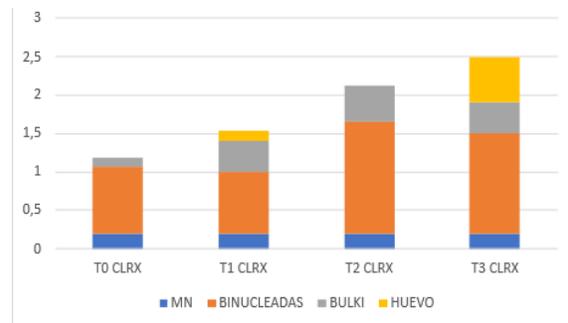
anormalidades nucleares, los tiempos de toma de muestras y la comparación de células normales en el grupo de clorhexidina y de roble *Quercus crassifolia* Bonpl., T0 (día cero sin tratamiento) T1 (una semana de uso de enjuague) T2 (15 días de tratamiento) T3 (revaloración). N. representan los resultados de MN (micronúcleos) en los cuatro tiempos. Ñ. representan las células epiteliales binucleadas en los cuatro tiempos de muestra. O. Representación de células bulki en los cuatro tiempos. P. Células huevo. P. Células huevo en los cuatro tiempos. Q. Sumatoria de las anormalidades nucleares y su distribución no paramétrica en los cuatro tiempos de toma de muestra.

Gráfica 3 y 4. Gráfica 1 y 2. Muestran los resultados del número de células epiteliales de la mucosa yugal apoptóticas, del tratamiento con roble y clorhexidina.

Gráfica 3. Enjuague de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.



Gráfica 4. Enjuague de roble Clorhexidina al 0.12%.



Gráfica 3. Representa el número de células con anormalidades nucleares en el tratamiento con enjuague de roble.

Gráfica 4. Representa el número de células con anormalidades nucleares en el tratamiento con enjuague de clorhexidina.

## VIII DISCUSIÓN

### 8.1 Pruebas fitoquímicas cualitativas y compuestos químicos bioactivos de los extractos acuoso e hidroalcohólico de roble *Q. crassifolia* Bonpl.

La prueba fitoquímica de saponinas (prueba de saponinas) identificó la propiedad de la disminución de tensión superficial y la presencia de saponinas en el árbol de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl.

Un estudio estructural de las principales saponinas derivadas de tri- terpenos ácidos del duramen del roble europeo, *Quercus robur* L. y *Q. petraea* Liebl, detectó la presencia de (A) ácido 2 alfa,3 beta,19 alfa-trihidroiolean-12-eno-24,28-dioico , (B) ácido 2 alfa,3 beta,19 alfa-23-tetrahidroiolean-12-eno-24,28-dioico (2), y sus glicósidos: ácido 28-beta-D-glucopiranosil-2 alfa,3 beta,19 alfa,23-tetrahidroiolean-12-eno-24,28-dioico (C), y ácido 28-beta-D-glucopiranosil-2 alfa,3 beta,19 alfa,23-tetrahidroiolean-12-eno-24,28-dioico (D), los compuestos (A) y (B) por primera vez se han reportado en las árboles de roble.<sup>149</sup>

Un estudio *in vitro* evaluó tres especies de roble, *Quercus crassifolia*, *Quercus laurina*, *Quercus scytophylla*, el extracto en crudo con agua caliente de *Q. crassifolia* presentó mayor rendimiento, la concentración de compuestos fenólicos fue de 747.0 mg (GAE)/g, correspondiente con equivalencia al ácido gálico, 25.4mg (QE)/g equivalente a quercetina y 235 mg de equivalencia a ácido hidroxicinámico (mg ChAE/g), 25.7 mg equivalentes de ácido clorogénico (ChAE)/g.<sup>97</sup>

Los resultados positivos a polifenoles con la prueba fitoquímica de cloruro férrico en esta investigación concuerdan con estudios de las especies de árboles de roble *Quercus ilex* y *Quercus coccifera* y *Q. laurina*, estos compuestos podrían ser la respuesta al efecto antioxidante del extracto de *Quercus crassifolia* Bonpl., además de ser los responsables de la característica organoléptica de la coloración ámbar oscura del extracto Ha y AQ.

Un ensayo comparó la composición química y propiedades funcionales de las bellotas de dos especies de árboles de roble *Quercus ilex* y *Quercus coccifera*. Determinaron que el contenido de polifenoles y flavonoides para el extracto etanólico al 60% han mostrado valores muy elevados para ambas especies.<sup>150</sup>

Un estudio para evaluar la propiedad combustible de la corteza de dos especies de roble *Q. crassifolia* y *Q. laurina*, concluyeron que no hubo diferencias significativas en la cantidad de un polímero fenólico (lignina) presente en ambas especies que fueron de 24.9 y 25.5% respectivamente.<sup>151</sup>

Al realizar el ensayo fitoquímico de Dragendorff resultó negativo a alcaloides para los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Q. crassifolia* Bonpl. Sin embargo, un estudio demostró que en la especie de roble *Q. coccifera* tiene potencial antioxidante y anticancerígeno, y se identificó que el extracto de n-hexano de la planta resultó negativo a alcaloides, después de una hora, también fue negativo a taninos, glucósidos, terpenoides, el extracto acuoso caliente y metanólico dieron positividad a la presencia de alcaloides después de 5 a 10 minutos después. El extracto de cloroformo dio positivo a taninos y alcaloides excepto a la presencia de glucósidos.<sup>152</sup> Los resultados negativos a la presencia de alcaloides, pudiesen deberse a que solo se evaluaron dos extractos HA de *Q.c.* Bonpl. y AQ de *Q.c.* Bonpl. y que la especie discutida es otra especie de roble.

Los resultados de la prueba fitoquímica de Lieberman-burchard para los extractos etanólico y acuoso de *Quercus crassifolia* Bonpl. resultó positivo a presencia de fitoesteroles; un estudio que comparó la composición química y propiedades funcionales de las bellotas de dos especies de árboles de roble *Quercus ilex* y *Quercus coccifera* que tienen ácidos grasos abundantes específicamente insaturados, oleico y linoleico además de muchos compuestos bioactivos fitoesteroles, colesterol, campesterol, estigmasterol,  $\beta$ -sitosterol,  $\Delta$  5-24estigmastadienol,  $\Delta$  7-estigmastenol,  $\Delta$  7-Abenasterol.<sup>150</sup>

El ensayo de Fehling indicó positividad a la presencia de glucósidos en la especie *Q. crassifolia* Bonpl. en el extracto acuoso e hidroalcohólico, lo cual se confirma con estudio que analizó el potencial combustible de la corteza de dos especies de roble *Q. crassifolia* y *Q. laurina*, concluyeron que no hubo diferencias significativas en la presencia de sus componentes biológicos  $\alpha$ -celulosa (47.6-47.9%) y hemicelulosa (22.4-23.2%) el contenido total de los extractos obtenidos fue mayor en la especie *Q. crassifolia*.<sup>151</sup>

Un estudio que comparó la composición química y propiedades funcionales de las bellotas de dos especies de árboles de roble *Quercus ilex* y *Quercus coccifera* contienen altos niveles de almidón.<sup>150</sup>

## **8.2 Efecto antioxidante de los extractos acuoso e hidroalcohólico de roble *Q. crassifolia* Bonpl.**

Los resultados del ensayo de DPPH, indicaron que el efecto antioxidante fue concentración dosis-dependiente, el extracto hidroalcohólico HA de *Q. crassifolia* Bonpl. de 500 mg/mL tuvo mayor absorbancia de  $0.357 \pm 0.150$ , la concentración de 250mg/ML y 125mg/ML disminuyó la absorbancia, mientras que el extracto acuoso mostró actividad similar al extracto HA sin diferencias significativas entre sus concentraciones lo que indicó un efecto no dependiente de la dosis.

Un estudio que evaluó la capacidad antioxidante y anticancerígena de los extractos de *Q. coccifera*, mostraron una capacidad antioxidante prometedora, la  $CE_{50}$  más alta contra 2,2,-difeníl -1-picrilhidrazilo (DPPH) se determinó usando 0.009 mg/ml del extracto acuoso de agua hervida, aunque su actividad fue menor que el control positivo quercetina.<sup>152</sup>

La comparación de los resultados de este trabajo con el ensayo anteriormente mencionado indicaría que los resultados hallados de la positividad del efecto antioxidante en el extracto acuoso coinciden con la efectividad antioxidante de la especie de *Q. coccifera*, sin embargo, cabe recalcar que la coloración ámbar de los extractos podría afectar la evaluación de la absorbancia. Una de las diferencias

importantes son las dosis de concentración alta de los extractos de *Q. crassifolia* Bonpl. que resultaron superiores al control positivo vitamina E, esto se justifica por la dosis-concentración de los extractos y se sugiere probar dosis a menor concentración y compararlo con quercetina y vitamina E.

### **8.3 Efecto antimicrobiano de los extractos acuoso e hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los resultados de este estudio, obtenidos de la evaluación del efecto antimicrobiano de los extractos hidroalcohólico y acuoso de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl. por halo de inhibición dieron como resultado que la clorhexidina (CHX) contra los extractos HA Y AQ de *Quercus crassifolia* Bonpl. fue significativamente más efectiva que ambos extractos en las cuatro especies bacterianas *A. israelii*, *A. actinomycetemcomitans* serotipo b, *P. gingivalis*, *F. nucleatum nucleatum*, el valor de P fue ( $p < 0.01$ ).

En cuanto a la comparación entre los extractos HA Y AQ de *Quercus crassifolia* Bonpl., indicó que el extracto hidroalcohólico (HA) es superior a el extracto acuoso (AQ) en todas las especies bacterianas, aunque solo fue estadísticamente significativo en la especie *A. actinomycetemcomitans* serotipo b ya que el valor fue ( $P 0.0399$ ) y en la inhibición de los halos de crecimiento bacteriano de *F. nuc. nuc.* ya que el valor de P fue de ( $p = 0.0377$ ).

Los halos de inhibición de *P. gingivalis* en este estudio fueron para CHX  $31.3 \pm 4.0$ , HA de  $11.0 \pm 1.0$  y para el AQ  $7.7 \pm 1.2$ .

Una investigación in vitro evaluó un gel muco adhesivo de *Quercus brantii* L. y *coriandrum sativum* L, para la administración periodontal. (Gel F) se realizó una evaluación antibacteriana de los halos de inhibición de *P. gingivalis* y los resultados de las zonas de inhibición en el cultivo de *P. gingivalis* fueron del gel F  $517.23 \pm 0.2$  mm y para tetraciclina 20 mm.<sup>80</sup> La diferencia entre este estudio y el anteriormente mencionado puede deberse a la consistencia del producto uno es gel y el otro es líquido, además de la diferencia de especies, sin embargo, la importancia de esta información radica en el potencial antimicrobiano en periodontopatógenos.

En este ensayo los resultados del diámetro de los halos de inhibición para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo b, fue para (CHX al 0.2%) de  $23.3 \pm 2.1$ mm, para el extracto (HA)  $18.7 \pm 6.7$ mm y en el extracto (AQ) fue de  $11.0 \pm 1.0$ mm. Lo cual parece coincidir respecto al halo de inhibición con el estudio anteriormente mencionado sin embargo la concentración para ambos extractos fue 1000 mg/ML, lo cual difiere debido a esta fue considerablemente mayor, uno de los factores que se tomó en consideración en la respuesta de la inhibición del halo de las bacterias estudiadas en nuestra investigación, es la densidad de los extractos (HA) y (AQ) que consideramos influyen en la fluidez del extracto y que pudo haber influido en los resultados del ensayo.

Un estudio *in vitro* evaluó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de agallas de *Quercus infectoria* sobre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* los resultados de la investigación fueron: Diámetros de áreas de inhibición de *Aa* en placas con extracto *Qi* midieron 10.33,12.83,16.83mm para concentraciones de 2.5,5,10mg/ml respectivamente. Para CHX al 0.2% fue de 17.13mm y para doxiciclina 13.13mm. La concentración mínima inhibitoria y bactericida fue para el extracto de *Qi* de 2.5 y 5mg/ml respectivamente, para clorhexidina 0.0039 y 0.0078 respectivamente, las comparaciones por pares de los valores del diámetro de la zona de inhibición revelaron valores comparables entre todos los grupos del extracto y clorhexidina al 0.20%, excepto para concentraciones de 2.5 y 5 mg/ml del extracto.<sup>79</sup>

Aunque en los últimos años se ha buscado dar respuesta con evidencia científica al uso de diversas especies de roble como posibles antimicrobianos naturales, no se ha realizado una vasta investigación en bacterias periodontopatógenas. Esta investigación será un paso importante debido a que se evaluaron cuatro especies asociadas a periodontitis, dos patógenas del grupo rojo, una bacteria puente y una bacteria benéfica, lo cual demostró que si existe un efecto antimicrobiano de la especie mexicana de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.

Los resultados de las concentraciones mínimas inhibitorias de ambos extractos hidroalcohólico y acuoso de roble *Quercus crassifolia*, indican que el extracto HA

mostró mayor efectividad que el extracto AQ en concentraciones de 1000-250mg/ML, en las concentraciones de 62.5-7.8mg/mL el extracto hidroalcohólico mantuvo menor crecimiento bacteriano (UFC).

Los resultados indican que la clorhexidina mostró mayor efectividad antimicrobiana la media fue de 0.04 UFC, seguido del extracto hidroalcohólico (HA).

El etanol al 30% tuvo una media de 6.19UFC, menos efectivo que el extracto HA.

El control negativo confirmó la esterilidad del ensayo, la media de las UFC fue de 0.02 UFC.

Las diferencias significativas de  $P < 0.05$ , la comparación de el extracto HA contra AQ en la concentración de 62.5 mg/mL fue de  $p 0.0059$ , la diferencia significativa del extracto HA contra el extracto acuoso AQ en la concentración de 31.2 mg/mL fue de  $p 0.0127$ , en la concentración de 15.6 mg/mL, el extracto HA contra AQ fue de  $p 0.0045$ .

No existe un estudio que indique la concentración mínima inhibitoria de Q.c., en las especies analizada en este estudio, sin embargo, existe un estudio sobre la composición química, actividad antibacteriana y mecanismo relacionado de *Valonia* y cáscara de *Quercus variabilis* Blume (Fragaceae) contra *Salmonella paratyphi A* y *Staphylococcus aureus* los resultados indicaron que *Valonia* y *Quercus* son bioactivos para las siguientes cepas, para las cepas *S. aureus*, *Valonia*  $10.89 \pm 0.12^a$  cáscara  $8.99 \pm 0.22^a$  *Púnica granatum*  $10.22 \pm 0.18^a$  cloranfenicol  $24.83 \pm 0.61^a$  y para *S. paratyphi A*. para *valonia*  $12.37 \pm 0.36^a$  cáscara  $9.62 \pm 0.16^a$  *Púnica granatum*  $10.30 \pm 0.21^a$  y para cloranfenicol  $29.96 \pm 0.01^a$ . Los valores de la concentración mínima inhibitoria de la fracción de n-butanol y los extractos de *valonia* contra *S. paratyphi A*. y *S. aureus* fueron 1.25 mg/ml y 0.625 mg/ml.<sup>81</sup>

#### **8.4 Efecto clínico periodontal del enjuague bucal de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los resultados en esta investigación dieron como resultado, una comparación entre las medias de las variables clínicas periodontales iniciales y la revaloración posterior al tratamiento, las variables analizadas fueron profundidad de bolsa (PB), Nivel de

inserción clínica (NIC), % sangrado al sondeo (SS), número de bolsas periodontales, y % de control de placa dentobacteriana; la media de la variable de número de bolsa en revaloración (cantidad de bolsas periodontales) el valor de p de 0.030, favoreció al uso del enjuague de roble para el control de bolsas residuales.

Los valores de la media de revaloración de nivel de inserción, en el grupo de roble presentó mejoría en los niveles de inserción el valor de p 0.0416, lo que podría sugerir que hay persistencia de inflamación en la fase de revaloración en el grupo roble, la clorhexidina presentó mejoría en los niveles de nivel de inserción clínica NIC, mucho mayor al uso del enjuague bucal, en cuanto al control de placa dentobacteriana, sangrado al sondeo no hubo diferencia estadísticamente significativa, ambos grupos presentaron mejoría en la revaloración en combinación con el tratamiento periodontal no quirúrgico, en todas las variables clínicas analizadas.

Un ensayo clínico cruzado en 50 pacientes con gingivitis inducida dividido en dos grupos, grupo uno (clorhexidina al 0.20% por 14 días) y grupo 2 (enjuague a base de hierbas dos veces al día por 14 días) Mostró que una mezcla de hierbas (*Myrtus communis*, *Punica granatum*, *Quercus brantii*, *Portulaca olerace* y *Boswellia serrata*) en enjuague bucal a base de 5 extractos mejoró la condición periodontal en la gingivitis inducida por placa después de dos semanas, comparable al efecto del enjuague bucal con clorhexidina al 0.20 % en términos de sangrado al sondeo, profundidad de bolsa al sondeo, índice gingival e índice de placa.<sup>61</sup>

No hubo diferencias significativas entre ambos enjuagues en las evaluaciones iniciales y seguimiento Índice gingival (P 0.809); Sangrado al sondeo (P 0.292); Índice de placa (P 0.595); Profundidad de bolsa mesial (P 0,177); Profundidad de bolsa distal (P 0.114); Profundidad de bolsa en lingual (P 0.477); Profundidad de bolsa bucal (P 0.966).<sup>61</sup>

Un estudio de casos y controles que realizó una evaluación clínica de la eficacia de los extractos etanólico acuoso al 1% de plantas medicinales (*Cúrcuma longa*, *Spilanthes acmella*, *Quercus infectoria*) para el control de placa y gingivitis en 16 pacientes voluntarios, se les realizó aplicación tópica de los extractos en 28 dientes en las superficies bucales y linguales. Los resultados concluyeron que *C. longa* tuvo

mejores resultados en control de placa y gingivitis incluso comparables a los productos comerciales. La reducción de placa con *C. longa* fue de 23,74%, para *S. acmella* 25,66%, *Q. infectoria* 15.75% en molares.<sup>153</sup>

Un estudio clínico en 110 pacientes de edad escolar los cuales se dividieron en dos grupos de estudio uno control (enjuague de clorhexidina de 0.20%) y en un grupo experimental que uso enjuague bucal herbal hecho de *Anacyclus pyrenthrum*, *Púnica granutum*, *Capparis spinosa* y agallas de *Quercus infectoria Olivier*, durante 30 días, la respuesta fue evaluada mediante el índice de CPOD, pH salival, índice de higiene bucal simplificado índice de placa de Loe y Silness, índice de placa simplificado de O'Leary, índice gingival Löe-Silness y sangrado al sondaje, al inicio y 30 días, el índice de placa y gingival se continuó evaluando por 60, 90 y 120 días, para evaluación a largo plazo. los resultados indicaron que las medias de todas las variables analizadas disminuyeron significativamente a los 30 días después del inicio del experimento  $p \leq 0,001$  respecto a la evaluación del índice gingival y de placa dentobacteriana a los 120 días se mantuvieron más bajos, por lo tanto, concluyeron que el uso del enjuague herbal es seguro y efectivo en conjunto a una terapia periodontal.<sup>154</sup>

### **8.5 Efecto citotóxico del enjuague bucal del roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los resultados de este estudio indicaron que no existe significancia estadística citotóxica con el uso clínico de enjuague de roble *Q. crassifolia* y de enjuague de clorhexidina al 0.12% de uso comercial, en pacientes con periodontitis.

La mayoría de las variables no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y en los diferentes tiempos de medición.

Hubo diferencias estadísticamente significativas en el conteo de células picnóticas en el T1 con un valor de ( $p 0.0025$ ), en el T2 los resultados de la comparación de medianas de las células picnóticas y fantasmas no presentaron diferencias

estadísticamente significativas valor de p igual a 0.06-0.09 entre ambos grupos tanto de clorhexidina al 0.12% como del enjuague de roble.

El número de micronúcleos y anormalidades nucleares obtenidos en este estudio, es igual o menor a la frecuencia basal de micronúcleos en personas sanas que es de 0.30–1.70 por 1000 células diferenciadas.<sup>99</sup>

Un ensayo clínico que evaluó la genotoxicidad en células epiteliales exfoliadas en pacientes con gingivitis crónica, se llevó a cabo con un grupo control que consistió en un tratamiento periodontal mecánico, de los cuales fueron de ciento un pacientes con diagnóstico de gingivitis crónica ( grupo control ) y un (grupo experimental) de 255 pacientes con gingivitis que fue tratado con clorhexidina al 0.20% diluida en un medio acuoso y técnicas de control mecánico de placa, este último grupo fue dividido en 5 subgrupos, los resultados indicaron que los valores de la media de células micronucleadas fue de  $0,41 \pm 0,71$  para el grupo control y que para el enjuague de clorhexidina a base de agua, los valores oscilaron entre  $2,57 \pm 1,64$  y hasta  $14,5 \pm 2,49$  células, concluyendo que el enjuague de clorhexidina al 0.20% diluida en un medio acuoso, es genotóxica para células epiteliales de la mucosa yugal en pacientes con gingivitis.<sup>155</sup>

La diferencia entre los resultados de genotoxicidad, entre el estudio anteriormente mencionado y nuestra investigación, pudiese deberse a que, en nuestro ensayo, se usó un enjuague bucal de clorhexidina de uso comercial al 0.12%, es decir a una concentración menor.

Cabe recalcar que la clorhexidina de uso comercial utilizada en nuestra investigación tiene como ingredientes principales digluconato de clorhexidina al 0.12% además de propilenglicol, glicerina, aceite de ricino hidrogenado, polietilenglicol 40, xilitol, poloxámero, acesulfamo potásico, mentol, sacarina sódica, sacarina, neohesperidina dc, ácido láctico, y colorantes.

La neohesperidina dc, es un derivado de hesperidina (flavonoide) que se ha reconocido como antiinflamatorio por su capacidad de supresión de inflamación en ratones. también es un antioxidante potente, especialmente evaluado como un excelente depurador de HOCl.<sup>156</sup> Además de favorecer el potencial osteogénico de las células pre-osteoblásticas.<sup>157</sup>

Esto podría ser la respuesta por la cual el grupo control (enjuague de clorhexidina al 0.12%) fue similar a la respuesta negativa a citotoxicidad con respecto al uso de enjuague bucal hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.

Un estudio de micronúcleos en ratones macho realizado para determinar la citotoxicidad de un desinfectante (Clean Natural) que tiene como componente principal propenos y vinagre de madera de *Quercus mongólica*, la posible mutagenicidad de este producto se estudió mediante la presencia de micronúcleos en ratones macho, la dosis máxima tolerada se determinó en >2,0 g/kg de peso corporal, las dosis para el ensayo se dividió en el grupo de 2.0g/kg como dosis alta, grupo de 1.0g/ kg como dosis media y grupo de 0.5 g/kg como dosis baja, el grupo control negativo fue de solución salina 20 mL/Kg, el grupo control positivo con mitomicina C 2 mg/K, se analizó el portaobjetos de la muestra a las 24 horas después de su administración, los resultados indicaron que no se observó una inducción significativa de micronúcleos, en ninguno de los grupo de Clean Natural, no se determinó citotoxicidad por inhibición de hematopoyesis, lo cual indicó que el desinfectante Clean natural, no induce micronúcleos en células vivas de ratón, dicho producto no presenta citotoxicidad.<sup>158</sup>

En comparación con nuestro estudio las tomas T1 a la T2 con el uso de enjuague bucal hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* (tópico) y T3 sin uso de enjuague, no presentaron aumento significativo en la presencia de micronúcleos en células epiteliales de seres humanos con periodontitis, lo cual indica que no es citotóxico en seres humanos, sin olvidar que la dosis del extracto hidroalcohólico de *Q. c.* no supera la dosis subaguda por ingesta de 11 mg/Kg/peso por día, y que el uso es estrictamente tópico, el nivel subagudo de efecto adverso de *Q. c.* más bajo para daño renal fue de 33 mg/kg de peso por día en ratones.<sup>159</sup>

Resulta prometedor que el desinfectante a base de *Quercus mongólica* no haya presentado incremento en células micronucleadas, incluso con ingesta, en ratones de con una dosis de 2.0 g/Kg 1.0 g/Kg, 0.5 g/Kg.<sup>158</sup>

Un estudio toxicológico puso en evidencia que el extracto purificado de *Quercus crassifolia* no clasificaba en las características de toxicidad en artemia franciscana

a las 12, 24 y 48 horas, por lo cual concluyeron que esta especie de roble no presentaba ningún riesgo para el medio ambiente.<sup>159</sup>

El estudio anteriormente mencionado, promete que los resultados no citotóxicos de *Q. crassifolia* en artemia son un paso confirmatorio de que lo mismo debiera suceder en los seres humanos, con base los artículos anteriormente mencionados en comparación a los resultados de nuestra investigación, se sugiere que el uso de *Q. crassifolia* Bonpl. es seguro para el ser humano, aunque se sugiere realizar más estudios y obtener una población humana más grande para incluirla en el estudio.

## **IX CONCLUSIONES**

### **9.1 Conclusión de la actividad antioxidante de extractos hidroalcohólico y acuoso de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los extractos de *Quercus crassifolia* Bonpl. acuoso e hidroalcohólico, presentaron una actividad antioxidante significativa y prometedora, dependiente de la concentración, incluso el extracto hidroalcohólico fue superior a la vitamina E grado reactivo.

Estos resultados respaldan el uso tradicional de los extractos de roble y abren la posibilidad del aprovechamiento y obtención de antioxidantes naturales.

El extracto hidroalcohólico de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl. fue el más prometedor como antioxidante natural, sin embargo, incluso el extracto acuoso de roble presentó actividad antioxidante sumamente significativa; la vitamina E grado reactivo fue menos efectiva en comparación a ambos extractos de roble. No obstante, estos se probaron en altas concentraciones en comparación a la vitamina E. Por lo tanto, se sugieren más estudios para identificar los compuestos bioactivos responsables del efecto antioxidante y evaluar la eficacia, así como también determinar su actividad en un ensayo clínico *in vivo*.

Estos hallazgos sugieren que *Q. crassifolia* Bonpl. podría ser una fuente excelente de compuestos bioactivos con aplicaciones en el desarrollo de terapias nuevas o complementarias, respaldando su uso tradicional y abriendo nuevas puertas de investigación para su aprovechamiento farmacéutico y también nutracéutico.

### **9.2 Conclusión del efecto antibacteriano del enjuague bucal de clorhexidina contra enjuague bucal de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

Los extractos, hidroalcohólico (HA) y acuoso (AQ) de *Quercus crassifolia* Bonpl. presentaron una considerable actividad antibacteriana frente a 2 patógenos periodontales *P. g.* y *A. a.* serotipo b, en una bacteria benéfica *A. i.* y en una bacteria

puente *F. nuc. nuc.* aunque ambos presentaron menor eficacia que la clorhexidina (CHX) al 0.20%.

El extracto HA demostró una mayor efectividad que el extracto AQ, determinando que los diámetros de los halos de inhibición fueron significativamente más grandes en *A. actinomycetemcomitans* y *F. nuc. nuc.* así como también por una menor concentración para la inhibición de crecimiento de las cuatro cepas (CMI) y reducción en las unidades formadoras de colonias (UFC).

Estos resultados respaldan el potencial antimicrobiano del extracto HA e incluso del extracto AQ de roble, como agentes coadyuvantes en el tratamiento de infecciones periodontales, lo cual es prometedor para la ejecución de futuros estudios que evalúen la actividad en la inhibición de biopelícula y más bacterias periodontopatógenas.

Se sugiere realizar más estudios para identificar la CMI en más cepas periodontopatógenas, y en la inhibición de biopelículas orales.

### **9.3 Conclusión del efecto citotóxico del enjuague bucal de clorhexidina contra enjuague bucal de roble *Quercus crassifolia* Bonpl.**

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento periodontal no quirúrgico con uso de enjuague bucal de roble, con extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl. y el enjuague de clorhexidina al 0.12%. en cuanto a la apoptosis y la presencia de células con anormalidades nucleares. Se puede concluir que ambos enjuagues no son genotóxicos.

### **9.4 Conclusiones del efecto del enjuague bucal en los parámetros clínicos periodontales**

El enjuague bucal de roble demostró un efecto superior en la reducción de bolsas periodontales residuales, mayor efectividad de la disminución de la profundidad de

bolsa, posterior al tratamiento mecánico periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular) y el uso del enjuague.

El grupo que uso enjuague de clorhexidina mostró menor inflamación residual debido a la mejoría del NIC superior al grupo que uso enjuague de roble, sin embargo, las bolsas residuales tuvieron mayor presencia que en el grupo que usó en enjuague de clorhexidina.

Ambos tratamientos redujeron significativamente las bolsas periodontales, el % de placa dentobacteriana, % de sangrado al sondeo, profundidad de bolsa periodontal y el número de bolsas, sin embargo, el uso del enjuague de roble presentó mejores resultados en el la disminución de profundidad de bolsa y número de bolsas periodontales posterior al tratamiento periodontal.

Ambos enjuagues fueron igual de efectivos para el control de placa dentobacteriana. Por tanto, el enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de roble *Quercus crassifolia* Bonpl. podría ser una alternativa comparable con los efectos clínicos del uso del enjuague de clorhexidina, sin embargo, se necesitan de más estudios y una muestra población humana mayor para debido a que la muestra que se estudio fue pequeña.

### **9.5 Conclusiones de los resultados fitoquímicos de los extractos de roble de *Quercus crassifolia* Bonpl.**

En esta investigación se concluyó que ambos extractos HA y AQ son positivos a saponinas, polifenoles, glucósidos, fitoesteroles, aunque fueron negativos a alcaloides. Con lo anterior se puede concluir que la composición química de ambos extractos es la responsable del efecto antimicrobiano y antioxidante. Sin embargo, se sugieren estudios más específicos para identificar los compuestos químicos que conforman a los extractos estudiados en este ensayo.

Los extractos hidroalcohólicos (HA) y acuoso (AQ) de *Q. crassifolia* Bonpl. especialmente él extracto HA, han demostrado propiedades antimicrobianas y antioxidantes importantes, lo cual puede justificar el uso tradicional para mitigar los

signos y síntomas ocasionados por las enfermedades periodontales, cabe recalcar el potencial coadyuvante en terapia periodontal. Aunque los dos extractos fueron menos efectivos que la CHX al 0.20% y al 0.12% (estándar de oro), su perfil de seguridad en células de mucosa bucal y su bioactividad justifican su uso clínico y la realización de estudios para su optimización.

El ensayo clínico periodontal no confirmó que el enjuague de roble fuese inferior a la CHX en el manejo de la inflamación gingival, destacando su viabilidad como tratamiento natural adyuvante y seguro, para la terapia periodontal no quirúrgica, aunque se recomiendan más estudios, que fortalezcan los efectos y beneficios de los extractos y el enjuague bucal con extracto hidroalcohólico de *Quercus crassifolia* Bonpl.

Se logró estandarizar el proceso para la extracción y preparación del enjuague bucal, además de que se consiguió que tuviera la estabilidad necesaria para su uso clínico en el tratamiento periodontal no quirúrgico en humanos.

El extracto (HA) resultó ser más potente para el efecto antimicrobiano de las cepas probadas, particularmente con *A.a.* serotipo b que es una bacteria periodontopatógena conocida, además también resultó eficaz en *F. nuc. nuc. que* es una bacteria puente que permite la congregación de bacterias periodontopatógenas del (grupo rojo) a las cuales se les atribuye el desarrollo de la periodontitis.

No se tienen diferencias significativas entre el tratamiento de clorhexidina comercial y el enjuague de roble en los parámetros de modelo citoma y anormalidades nucleares, lo que indica que es seguro para el uso del tratamiento de la enfermedad periodontal.

## **XI RECOMENDACIONES**

La enfermedad periodontal es una enfermedad multifactorial, que tiene un origen bacteriano específicamente producida por una disbiosis del microbiota bucal, lo cual genera una infección y una inflamación crónica que ocasiona la destrucción de tejidos de soporte de los dientes, con base a lo anterior la investigación debiese tener complementariedad a futuro con la evaluación de los efectos del enjuague sobre la biopelícula oral y en la expresión genética bacteriana y su comportamiento. Es importante identificar los compuestos químicos de cada uno de los extractos y determinar su estructura molecular, por resonancia magnética nuclear.

Se sugiere complementar la investigación *in vitro* con cultivos celulares de fibroblastos y queratinocitos para evaluar los efectos sobre la cicatrización y respuesta inflamatoria.

Analizar el efecto e impacto sobre la microbiota oral y homeostasis bacteriana.

Evaluar seguridad y farmacología: realizar estudios toxicológicos agudos y sub crónicos.

Estudiar la farmacocinética de los compuestos del extracto en el que se basó el enjuague bucal.

Formular combinaciones con otros extractos herbales que pudiesen potenciar la eficacia de los resultados preliminares.

Desarrollar geles, pasta dental con nanopartículas, evaluar estabilidad y su vida útil, así como calidad.

Respecto al estudio experimental *in vivo* se sugiere realizar la investigación con seguimiento a largo plazo para establecer los efectos del enjuague bucal con extractos de *Quercus crassifolia* Bonpl. a largo plazo.

### **10.1 Alcances y limitaciones**

El estudio aporta evidencia prometedora sobre los extractos y enjuague de *Q. crassifolia* Bonpl. como agentes antioxidantes, antibacterianos, seguros en la terapia periodontal no quirúrgica, pero requiere investigaciones más amplias para:

Validar resultados en poblaciones más grandes.

Identificar y estandarizar los compuestos activos responsables de los efectos antimicrobianos y antioxidantes.

Evaluar efectos en biopelículas y a más largo plazo.

Optimizar formulaciones para competir con la CHX.

investigación *in vitro* con cultivos celulares de fibroblastos y queratinocitos para evaluar los efectos sobre la cicatrización y respuesta inflamatoria.

## XI. REFERENCIAS

- (1) Sánchez-Burgos JA, Ramírez - Mares M, Larrosa MM, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF, Medina-Torres L, Rocha-Guzmán NE. Antioxidant, antimicrobial, antitopoisomerase and gastroprotective effect of herbal infusions from four *Quercus* species. *Ind. Crops. Prod.* 2013; 42:57–62.
- (2) Fuentes MI, Villavicencio MA, Pérez E. Plantas medicinales de Omitlán, Hidalgo, México. *UNL. Digital Commons.* 2013;2(10):129-135.
- (3) Viesca TC. Uso de las plantas medicinales mexicanas. *Arqueología Mexicana.* 199;(39):30-35.
- (4) Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43(11):5721-32.
- (5) Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* 2019;23(1):122-128.
- (6) Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2012;10(10):717-25.
- (7) Petersen PE, Baehni PC. Periodontal health and global public health. *Periodontol.* 2000.2012;60(1):7-14.
- (8) Slots J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol* 2000.2017;75:7–23.
- (9) Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current Concepts in the Management of Periodontitis. *Int. Dent. J.* 2021;71(6):462-476.
- (10) Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, et al. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview. *J. Immunol. Res.* 2014;2014
- (11) Papananou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, 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;89: S173-S182.
- (12) Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.* 1976;34 (3):235-49.
- (13) Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. *J. Immunol. Res.* 2015;2015:615486.
- (14) Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J. Periodontol.* 2008;79(8):1569-76.
- (15) Taubman M A, Valverde P, Han X, Kawai T. Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J. Periodontol.* 2005;76(11):2033-41.
- (16) Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect. Immun.* 1999;67(5):2319-26.
- (17) Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch C A. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J. Periodontal Res.* 1995;30:23–33.

- (18) Birkedal-Hansen H, Moore W G, Bodden M K, Windsor L J, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler J A. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*1993;4:197–250.
- (19) Freije J M, Diez-Itza I, Balbin M, Sanchez L M, Blasco R, Tolivia J, Lopez-Otin C. Molecular cloning and expression of collagenase-3, a novel human matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J. Biol. Chem.*1994;269:16766–16773.
- (20) Golub L M, Lee H M, Greenwald R A, Ryan M E, Sorsa T, Salo T, Giannobile W V. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm. Res.*1997;46:310–319.
- (21) Stahle-Backhadl M, Sandstedt B, Bruce K, Lindhal A, Jimenez M G, Vega J A, Lopez-Otin C. Collagenase-3 (MMP-13) is expressed during human fetal ossification and re-expressed in postnatal bone remodelling and in rheumatoid arthritis. *Lab. Investig.*1997;76:717–728.
- (22) Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.*1965;36:177-87.
- (23) Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J. Periodontal. Res.*1966; 1:1-13.
- (24) Holmstrup P, Plemons J, Meyle J. Non-plaque-induced gingival diseases. *J. Periodontol.*2018;89(1):28-45.
- (25) Chapple I, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, Geisinger ML, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Perimplant Diseases and Conditions. *J. Clin. Periodontol.*2018;45(20):68-77.
- (26) Lang NP, Bartold PM. Salud periodontal. *J. Periodontol.* 2018; 89 (Supl.1): S9 - S16.
- (27) Tonetti MS, Sanz M. Implementation of the new classification of periodontal diseases: Decision-making algorithms for clinical practice and education. *J. Clin. Periodontol.*2019;46(4):398–405.
- (28) 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):604-626.
- (29) 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; 45:149–61.
- (30) Salvi GE, Rocuzzo A, Imber JC, Stähli A, Klinge B, Lang NP. Clinical periodontal diagnosis. *Periodontol 2000.* 2023:14.
- (31) Darby I. Risk factors for periodontitis and peri-implantitis. *Periodontol 2000.* 2022;90(1):9-12.

- (32) Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *J. Clin. Periodontol.* 2020;47(22):4–60.
- (33) West N, Chapple I, Claydon N, D'Aiuto F, Donos N, Ide M, Needleman I, Kebschull M; British Society of Periodontology and Implant Dentistry Guideline Group Participants. BSP implementation of European S3 - level evidence-based treatment guidelines for stage I-III periodontitis in UK clinical practice. *J. Dent.* 2021;106:103562.
- (34) Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology.* *Nat. Rev. Microbiol.* 2018;16(12):745-759.
- (35) Cobb CM, Sottosanti JS. A re-evaluation of scaling and root planing. *J. Periodontol.* 2021;92(10):1370-1378.
- (36) Heitz-Mayfield LJ, Trombelli L, Heitz F, Needleman I, Moles D. A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2002;29(3):92-102;160-2.
- (37) Wilson TG Jr. Supportive periodontal treatment: maintenance. *Curr. Opin. Dent.* 1991 ;1(1):111-7.
- (38) Dominguez-Bello MG, Godoy-Vitorino F, Knight R, Blaser MJ. Role of the microbiome in human development. *Gut.* 2019;68(6):1108–14.
- (39) Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MCC, Charles T. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome.* 2020;8(1):103.
- (40) Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, Colombel JF. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2004;53(1):1-4.
- (41) Bouyahya A, Dakka N, Et-Touys A, Abrini J, Bakri Y. Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2017;10(8):729-743.
- (42) Parsek MR, Greenberg EP. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proc. Natl. Acad. Sci U. S. A.* 2000;97(16):8789-93.
- (43) Kamada N, Chen GY, Inohara N, Nunez G Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat. Immunol.* 2013;14, 685–690.
- (44) Kamada N, Seo SU, Chen GY, Nunez G Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol* 2013;13, 321–335.
- (45) Johansson A, Claesson R, Höglund Åberg C, Haubek D, Lindholm M, Jasim S, Oscarsson J. Genetic Profiling of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Serotype B Isolated from Periodontitis Patients Living in Sweden. *Pathogens.* 2019;8(3):153.

- (46) Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*. 1998;280(5361):295-8.
- (47) DiRienzo JM. Breaking the Gingival Epithelial Barrier: Role of the *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Cytolethal Distending Toxin in Oral Infectious Disease. *Cells*.2014;3(2):476-99.
- (48) Henderson B., Ward J.M., Ready D. *Aggregatibacter* (Actinobacillus) *actinomycetemcomitans*: A triple A\* periodontopathogen? *Periodontol*. 2000.2010;54:78–105.
- (49) Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J. Clin. Periodontol*.1998;25(2):134-44.
- (50) Belibasakis GN, Maula T, Bao K, Lindholm M, Bostanci N, Oscarsson J, Ihalin R, Johansson A. Virulence and Pathogenicity Properties of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Pathogens*.2019;8(4):222.
- (51) Han YW. *Fusobacterium nucleatum*: a commensal-turned pathogen. *Curr. Opin. Microbiol*.2015;23:141-7.
- (52) Kaplan A, Kaplan CW, He X, McHardy I, Shi W, Lux R. Characterization of aid1, a novel gene involved in *Fusobacterium nucleatum* interspecies interactions. *Microb. Ecol*.2014; 68:379–387.
- (53) Kaplan CW, Ma X, Paranjpe A, Jewett A, Lux R, Kinder-Haake S, Shi W. *Fusobacterium nucleatum* outer membrane proteins Fap2 and RadD induce cell death in human lymphocytes. *Infect. Immun*.2010;78:4773–4778.
- (54) Bachrach G, Ianculovici C, Naor R, Weiss EI. Fluorescence based measurements of *Fusobacterium nucleatum* coaggregation and of fusobacterial attachment to mammalian cells. *FEMS Microbiol*.2005;248:235–240.
- (55) Kononen E, Wade WG. Actinomyces and related organisms in human infections. *Clin. Microbiol. Rev*. 2015;28(2):419–42.
- (56) Könönen E, Wade WG. Actinomyces and related organisms in human infections. *Clin. Microbiol Rev*. 2015;28(2):419-42.
- (57) Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial. Ecology. *Periodontol*. 2000. 2005;38:135-87.
- (58) Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman & Kenneth S. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions Purpose and rationale. *Periodontol* 2000.1997;14:216-48.
- (59) Elashiry M, Morandini AC, Cornelius Timothius CJ, Ghaly M, Cutler CW. Selective antimicrobial therapies for periodontitis: Win the “battle and the war.” *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22(12):6459.
- (60) Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res*. 1993;28(6 Pt 2):500-10.
- (61) Talebi Ardakani M, Farahi A, Mojab F, Moscowchi A, Gharazi Z. Effect of an herbal mouthwash on periodontal indices in patients with plaque-induced

- gingivitis: A cross-over clinical trial. *J. Adv. Periodontol. Implant. Dent.* 2022;14(2):109-113.
- (62) Fine DH. Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. *Am. J. Dent.* 1988;1:259–263.
- (63) Fine DH, Letizia J, Mandel ID. The effect of rinsing with Listerine antiseptic on the properties of developing dental plaque. *J. Clin. Periodontol.* 1985;12(8):660-6.
- (64) Sekino S., Ramberg P. The effect of a mouth rinse containing phenolic compounds on plaque formation and developing gingivitis. *J. Clin. Periodontol.* 2005;32:1083–1088.
- (65) Chatzopoulos GS, Karakostas P, Kavakloglou S, Assimopoulou A, Barmpalexis P, Tsalikis L. Clinical Effectiveness of Herbal Oral Care Products in Periodontitis Patients: A Systematic Review. *Int. J. Environ Res. Public Health.* 2022;19(16):10061.
- (66) Gościński A, Paczkowska-Walendowska M, Skotnicka A, Ruchała MA, Cielecka-Piontek J. Can Plant Materials Be Valuable in the Treatment of Periodontal Diseases? Practical Review. *Pharmaceutics.* 2021;13(12):2185.
- (67) Schönknecht K, Surdacka A, Rudenko L. Effectiveness of composed herbal extract in the treatment of gingivitis and oral and pharyngeal mucosa - review of studies. *Wiad. Lek.* 2021;74(7):1737-1749.
- (68) Shikov AN, Pozharitskaya ON, Makarov VG, Wagner H, Verpoorte R, Heinrich M. Medicinal Plants of the Russian Pharmacopoeia; Their history and applications. *J. Ethnopharmacol. Elsevier Ireland Ltd.* 2014; 154:481–536.
- (69) Elansary HO, Szopa A, Kubica P, Ekiert H, Mattar MA, Al-Yafrasi MA, et al. Polyphenol profile and pharmaceutical potential of quercus spp. Bark Extracts. *Plants (Basel).* 2019;8(11):1-14.
- (70) Shikov AN, Narkevich IA, Flisyuk EV, Luzhanin VG, Pozharitskaya ON. Medicinal plants from the 14th edition of the Russian Pharmacopoeia, recent updates. *J. Ethnopharmacol.* 2021;25(268):113685.
- (71) Taib M, Rezzak Y, Bouyazza L, Lyoussi B. Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Activities of Quercus Species. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2020;31(2020):1920683.
- (72) Šukele R, Skadiņš I, Koka R, Bandere D. Antibacterial effects of oak bark (*Quercus robur*) and heather herb (*Calluna vulgaris* L.) extracts against the causative bacteria of bovine mastitis. *Vet. World.* 2022;15(9):2315-2322.
- (73) Sari S, Barut B, Özel A, Kuruüzüm-Uz A, Şöhretoğlu D. Tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential of compounds isolated from *Quercus coccifera* bark: in vitro and in silico perspectives. *Bio. Chem.* 2019;86:296–304.
- (74) Huang J, Wang Y, Li C, Wang X, He X. Triterpenes isolated from acorns of *Quercus serrata* var. *brevipetiolata* exert anti-inflammatory activity. *Industrial Crops and Products.* 2016;91:302–309.

- (75) Indrianingsih AW, Tachibana S, Dewi RT, Itoh K. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activities of natural compounds isolated from *Quercus gilva* Blume leaves. *Asia Pac. J. Trop. Biomed.* 2015;5(9):748–755.
- (76) Indrianingsih AW, Tachibana S, Dewi RT, Itoh K. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activities of natural compounds isolated from *Quercus gilva* Blume leaves. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2015;5(9):748–755.
- (77) Shourmij M, Khalili Fard J, Najafizadeh P, Mousavi Z. Safety assessment of the *Quercus brantii* gall hydroalcoholic extract: Single and repeated oral dose toxicity studies. *Iran J Basic Med Sci.* 2022;25(11):1389-1395.
- (78) Ahmed AA, Salih FA. *Quercus infectoria* gall extracts reduce quorum sensing-controlled virulence factors production and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* recovered from burn wounds. *BMC. Complement Altern. Med.* 2019;19(1):177.
- (79) Tabibzadeh Noori Z, Tabatabaei Rad M, Hakemi Vala M, Karimi M, Esmaeil Nejad A. Evaluation of the antibacterial effect of hydroalcoholic extract of the galls of *Quercus infectoria* on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J. Adv. Periodontol. Implant Dent.* 2023;15(1):34–41.
- (80) Aslani A, Ghannadi A, Najafi H. Design, formulation and evaluation of a mucoadhesive gel from *Quercus brantii* L. and *coriandrum sativum* L. as periodontal drug delivery. *Adv. Biomed. Res.* 2013;2(1):21.
- (81) Zhou D, Liu ZH, Wang DM, Li DW, Yang LN, Wang W. Chemical composition, antibacterial activity and related mechanism of valonia and shell from *Quercus variabilis* Blume (Fagaceae) against *Salmonella paratyphi* a and *Staphylococcus aureus*. *BMC. Complement. Altern. Med.* 2019;19(1):271.
- (82) Alizade Naini M, Mehrvarzi S, Zargari-Samadnejadi A, Tanideh N, Ghorbani M, Dehghanian A, et al. The Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Quercus brantii* Extract on TNBS-Induced Ulcerative Colitis in Rats. *J. Evid. based Complementary Altern. Med.* 2021; 2021:1-12.
- (83) Saleem A, Hameed I, Akhtar MF, Ashraf GM, Alghamdi BS, Rahman MH, et al. Exploration of acute and chronic anti-inflammatory potential of *Quercus leucotrichophora* A. *Camus* extracts in Wistar rats: A mechanistic insight. *Front. Pharmacol.* 2023;14:1-16.
- (84) Basatinya AM, Sajedianfard J, Nazifi S, Hosseinzadeh S, Kamrani Mehni M, Farahi A, et al. Effects of ethanolic extracts of *Quercus*, *Cirsium vulgare*, and *Falcaria vulgaris* on gastric ulcer, antioxidant and inflammatory indices, and gene expression in rats. *Physiol. Rep.* 2021;9(16):1-17.
- (85) Hapidin H, et al. *Quercus infectoria* Gall Extract Enhanced the Proliferation and Activity of Human Fetal Osteoblast Cell Line (hFOB 1.19). *Malays J. Med. Sci.* 2015;22(1):12-22.
- (86) National Center for Biotechnology Information (2025). PubChem Compound Summary for CID 9552081, Chlorhexidine Gluconate. Retrieved February 3, 202 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorhexidine-Gluconate>.

- (87) Hidalgo E, Dominguez C. Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity. *Appl. In Vitro Toxicol.* 2001;15(4-5):271-6.
- (88) Cunha G, D'Angieri Saugo G, Gabrielli MAC, Barbeiro CO, de Almeida LY, Bufalino A, Pereira-Filho VA. Cytotoxicity evaluation of Chlorhexidine and Blue®M applied to a human gingival fibroblast (HGF-1) and keratinocytes (NOK-SI): In vitro study. *J. Stomatol. Oral Maxillofac. Surg.* 2024;125(2):2468-785.
- (89) National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 9552079, Chlorhexidine [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2004 - [cited 2025 Jul 2]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorhexidine>.
- (90) Liu JX, Werner J, Kirsch T, Zuckerman JD, Virk MS. Cytotoxicity evaluation of chlorhexidine gluconate on human fibroblasts, myoblasts, and osteoblasts. *J. Bone Jt. Infect.* 2018;3(4):165-172.
- (91) Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol. In Vitro.* 2008 Mar;22(2):308-17.
- (92) Lessa FC, Aranha AM, Nogueira I, Giro EM, Hebling J, Costa CA. Toxicity of chlorhexidine on odontoblast-like cells. *J. Appl. Oral Sci.* 2010;18(1):50-8.
- (93) Luca Fiorillo, Cesare D'Amico, Vini Mehta, Marco Ciccì, Gabriele Cervino, Chlorhexidine cytotoxicity on oral Behaviors: Last 20 Years systematic review. *Oral Oncol.* 2024;9:100245.
- (94) Tovar-Sánchez E, Oyama K. Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: morphological and molecular evidence. *Am. J. Bot.* 2004;91(9):1352-63.
- (95) Mora J, Mauricio A. Patrones morfológicos foliares de *Quercus crassifolia* (Fagaceae) a través de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 2016. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/433543>.
- (96) Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Quercus crassifolia* Bonpl., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:1180421>. 2019.
- (97) Valencia-Avilés E, García-Pérez ME, Garnica-Romo MG, Figueroa-Cárdenas JD, Meléndez-Herrera E, Salgado-Garciglia R, Martínez-Flores HE. Antioxidant Properties of Polyphenolic Extracts from *Quercus Laurina*, *Quercus Crassifolia*, and *Quercus Scytophylla* Bark. *Antioxidants (Basel)*. 2018;7(7):81.
- (98) Valencia-Avilés E, Martínez-Flores HE, García-Pérez M, Meléndez-Herrera E, García-Pérez ME. Investigation of the Antibacterial Activity and Subacute Toxicity of a *Quercus crassifolia* Polyphenolic Bark Extract for its Potential Use in Functional Foods. *J. Food Sci.* 2019;84(7):1692-1702.

- (99) Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Thomas P, Fenech M. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - an update and expanded photogallery. *Mutat. Res.* 2013;753(2):100-113.
- (100) Hernández-Ceruelos MA, Muñoz S, López Contreras LA, Sauz SG, Lara G, Silva JA. Modelo del citoma como biomarcador de la severidad de la preeclampsia. *Educación Y Salud Boletín Científico Instituto De Ciencias De La Salud Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo*, 2020;(16):144-151.
- (101) Fenech M., Knasmueller S., Bolognesi C., Bonassi S., Holland N., Migliore L., Palitti F., Natarajan A.T., Kirsch-Volders M. Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans. *Mutat. Res.* 2016;770:12–25.
- (102) Ye CJ, Sharpe Z, Alemara S, Mackenzie S, Liu G, Abdallah B, Horne S, Regan S, Heng HH. Micronuclei and Genome Chaos: Changing the System Inheritance. *Genes (Basel)*. 2019 May 13;10(5):366.
- (103) Mackenzie K.J., Carroll P., Martin C.A., Murina O., Fluteau A., Simpson D.J., Olova N., Sutcliffe H., Rainger J.K., Leitch A., et al. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity. *Nature*. 2017;548:461–465.
- (104) Harding SM, Benci J, Irianto J, Discher DE, Minn AJ, Greenberg RA. Mitotic progression following DNA damage enables pattern recognition within micronuclei. *Nature*. 2017;548:466–470.
- (105) Bartsch K, Knittler K, Borowski C, Rudnik S, Damme M, Aden K, Spehlmann ME, et al. Absence of RNase H2 triggers generation of immunogenic micronuclei removed by autophagy. *Hum. Mol. Genet.* 2017;26:3960–3972.
- (106) Erenpreisa JE., Ivanov A, Dekena G., Vitina A, Krampe R, Freivalds T, Selivanova G, et al. Arrest in metaphase and anatomy of mitotic catastrophe: mild heat shock in two human osteosarcoma cell lines. *Cell. Biol. Int.* 2000;24:61–70.
- (107) Ambros IM, Rumpler S, Luegmayer A, Hattinger CM, Strehl S, Kovar H, Gadner H, et al. Neuroblastoma cells can actively eliminate supernumerary MYCN gene copies by micronucleus formation—Sign of tumour cell reversion? *Eur. J. Cancer*. 1997;33:2043–2049.
- (108) Heng HH, Liu G, Bremer S, Ye KJ, Stevens J, Ye CJ. Clonal and non-clonal chromosome aberrations and genome variation and aberration. *Genome*. 2006;49:195–204.
- (109) Stevens JB, Liu G, Bremer SW, Ye KJ, Xu W, Xu J, Sun Y, Wu GS, Savasan S, Krawetz SA, et al. Mitotic cell death by chromosome fragmentation. *Cancer Res.* 2007;67:7686–7694.
- (110) Jiménez MC, Sanders AE, Mauriello SM, Kaste LM, Beck JD. Prevalence of periodontitis according to Hispanic or Latino background among study

- participants of the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *J. Am. Dent. Assoc.* 2014;145(8):805-816
- (111)NOM-035-STPS-2018, Factores de riesgo psicosocial en el trabajo-Identificación, análisis y prevención. Secretaría del Trabajo y Previsión Social. 2018.
- (112)Cueto M. Microbiological diagnosis of urinary tract infections. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2005;23(4):9-14.
- (113)Weinberg MA, Hassan H. Bleeding on probing: ¿what does it mean? *Gen. Dent.* 2012;60(4):271-8.
- (114)Torresyap G, Haffajee AD, Uzel NG, Socransky SS. Relationship between periodontal pocket sulfide levels and subgingival species. *J. Clin. Periodontol.* 2003;30(11):1003-10.
- (115)Gibbs CH, Hirschfeld JW, Lee JG, Low SB, Magnusson I, Thousand RR, Yerneni P, Clark WB. Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe, the Florida probe. *J. Clin. Periodontol.* 1988;15(2):137-44.
- (116)Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J. Periodontol.* 1970;41(1):41-3.
- (117)Loe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J. Periodontol.* 1967;38(6):610–6.
- (118)Esser VM, Elefson DE. Experiences with the Kirby-Bauer method of antibiotic susceptibility testing. *Am. J. Clin. Pathol.* 1970;54(2):193-8.
- (119)Satlin MJ, Lewis JS, Weinstein MP, Patel J, Humphries RM, Kahlmeter G, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Position Statements on Polymyxin B and Colistin Clinical Breakpoints. *Clin. Infect. Dis.* 2020 ;71(9):523-529.
- (120)Weckerle CS, de Boer HJ, Puri RK, van Andel T, Bussmann RW, Leonti M. Recommended standards for conducting and reporting ethnopharmacological field studies. *J. Ethnopharmacol.* 2018;210: 125–32.
- (121)Báez M. Estudio químico del extracto acuoso de la madera de *Mangifera indica* L. (Mango criollo). Tesis de Maestría. Michoacán México. Universidad Michoacana de san Nicolas de Hidalgo.2009:1-59.
- (122)López García RC. Evaluación de diferentes métodos de maceración aplicados a la mejora de la calidad de vinos tintos de la variedad Bobal a partir de los valores de su composición polifenólica y sensorial, procesados mediante técnicas de análisis multicriterio. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de València. España. 2016:1-223.
- (123)Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.*1958;181:1199–1200.
- (124)Contreras-Guzman ES, Strong FC. Determination of tocopherols (Vitamin E) by reduction of cupric ion. *JAOAC.*1982;65:1215–1222.
- (125)Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol.* 2011;48(4):412-22.

- (126) Guija-Poma E, Inocente-Camones MA, Ponce-Pardo J, Zarzosa-Norabuena E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz. Med.* 2015;15(1):57-60.
- (127) Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res.* 2000;14(5):323-8.
- (128) Adegoke AA, Iberl PA, Akinpelu DA, Aiyegoro OA, Mbotto CI. Studies on phytochemical screening and antimicrobial potentials of *Phyllanthus amarus* against multiple antibiotic-resistant bacteria. *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 2010;3(3):6–12.
- (129) Raal A, et al. Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia. *Pharmazie.* 2020;75(7):299-306.
- (130) Xu WY, Tang J, Ji CJ, He WJ, Tan N.H. Application of a TLC chemical method to detection of cyclotides in plants. *Chin. Sci. Bull.* 2008;53:1671-1674.
- (131) Abdalla AA, Mustafa I, Makhawi AM, Mustafa MI. Phytochemical screening and antimicrobial activities studies of *Acacia nilotica* fruit cover. *bioRxiv.* 2020:1–16.
- (132) Godlewska K, Pacyga P, Szumny A, Szymczycha-Madeja A, Welna M, Michalak I. Methods for Rapid Screening of Biologically Active Compounds Present in Plant-Based Extracts. *Molecules.* 2022;27(20):7094.
- (133) Kenny AP. The determination of cholesterol by the liebermann-burchard reaction. *Biochemical Journal.* 1952;52(4):611–619.
- (134) Adu JK, Amengor CDK, Kabiri N, Orman E, Patamia SAG, Okrah BK. Validation of a Simple and Robust Liebermann-Burchard Colorimetric Method for the Assay of Cholesterol in Selected Milk Products in Ghana. *Int J. Food Sci.* 2019; 13:9045938.
- (135) Subedi A, Chaudhary RP, van Achterberg C, Heijerman T, Lens F, Van Dooren TJ, Gravendeel B. Pollination and protection against herbivory of Nepalese *Coelogyninae* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 2011;98(7):1095-103.
- (136) Díaz-Castelazo C, Rico-Gray V, Ortega F, Angeles G. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. *Ann. Bot.* 2005;96(7):1175-89.
- (137) Freitas A, Oliveira. Ants as selective agents on herbivore biology: effects on the behaviour of a non-myrmecophilous butterfly. *J. Anim. Ecol.* 1996; 65:205–210.
- (138) Sasidharan S, Chen Y., Saravanan D., Sundram K.M., Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2011;8:1–10.
- (139) Shetty S, Vijayalaxmi KK. Phytochemical investigation of extract/solvent fractions of *Piper nigrum* Linn. Seeds and *Piper betle* Linn. leaves. *Int. J. Pharma. Bio Sci.* 2012; 3:344–349.

- (140)Góral I, Wojciechowski K. Surface activity and foaming properties of saponin-rich plants extracts. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2020; 279:102145.
- (141)Almaguer-Flores A, González-Alva P. Actividad antibacteriana de los medicamentos homeopáticos *Lycopodium clavatum* y *Arsenicum album* contra las bacterias periodontales. *Odontos.* 2018;20(2):271-79.
- (142)Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(1):5-16.
- (143)Schön T, et al. antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex isolates - the EUCAST broth microdilution reference method for MIC determination. *Clin. Microbiol. Infect.* 2020;26(11):1488-1492.
- (144)Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol. Am. J. Clin. Pathol.* 1966;45(4):493-6.
- (145)Courvalin P. Interpretive reading of in vitro antibiotic susceptibility tests (the antibiogramme). *Clin. Microbiol. Infect.* 1996;2(1):26-34.
- (146)Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014;20(4):255-66.
- (147)Falakdin P, Dastan D, Pourmoslemi S. Combined Antimicrobial Activity of Extracts from *Quercus infectoria* Galls and *Scrophularia striata* Aerial Parts for an Anticariogenic Herbal Mouthwash. *J. Pharmacopuncture.* 2023;26(1):44-52.
- (148)Page RC, Eke PI. Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. *J. Periodontol.* 2007;78:1387–1399.
- (149)Arramon G, Saucier C, Colombani D, Glories Y. Identification of triterpene saponins in *Quercus robur* L. and *Q. petraea* Liebl. Heartwood by LC-ESI/MS and NMR. *Phytochem. Anal.* 2002;13(6):305-10.
- (150)Rabeb L, Manef A, Jamel M. Comparative chemical composition of two *Quercus* species seeds growing in Tunisia. 2022;146:71-76.
- (151)Ruiz-Aquino F, González-Peña MM, Valdez-Hernández JI, Revilla U S, Romero-Manzanares A. Chemical characterization and fuel properties of wood and bark of two oaks from Oaxaca, Mexico. *Industrial Crops and Products.* 2015;65: 90-95.
- (152)Jaber SA. The antioxidant and anticancer activity of *Quercus coccifera* plant leaves extracts. *Saudi J. Biol. Sci.* 2024;31(5):103979.
- (153)Agrawal J, Pant AB, Agrawal RK. Comparative assessment of medicinal plant extract efficacy against plaque and gingivitis: A case-control study. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2024;28(2):204-209.
- (154)Fahim MFM, Zarnigar P. Effect of prepared herbal mouthwash in maintaining the oral health of school children: A single-blind randomised control trial. *Explore (NY).* 2024;20(4):535-543.
- (155)Khan S, Khan AU, Hasan S. Genotoxic assessment of chlorhexidine mouthwash on exfoliated buccal epithelial cells in chronic gingivitis patients. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2016;20(6):584-591.

- (156) Choi JM, Yoon BS, Lee SK, Hwang JK, Ryang R. Antioxidant properties of neohesperidin dihydrochalcone: inhibition of hypochlorous acid-induced DNA strand breakage, protein degradation, and cell death. *Biol. Pharm. Bull.* 2007;30(2):324-30.
- (157) Ortiz AC, Fideles SOM, Reis CHB, Bellini MZ, Pereira ESBM, Pilon JPG, de Marchi MÂ, Detregiachi CRP, Flato UAP, Trazzi BFM, Pagani BT, Ponce JB, Gardizani TP, Veronez FS, Buchaim DV, Buchaim RL. Therapeutic Effects of Citrus Flavonoids Neohesperidin, Hesperidin and Its Aglycone, Hesperetin on Bone Health. *Biomolecules.* 2022 ;12(5):626.
- (158) Cho Y, Kim E, Lim Y, Kim G, Lee H. The Micronucleus Test of Clean Natural with Mice. *J. Env. Hlth.* 2005; 31:411-414.
- (159) Martínez García MC. Estudio de las propiedades antioxidantes toxicológicas de extractos polifenólicos de las cortezas de especies mexicanas pertenecientes al género *Quercus*. Tesis de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. 2016:1-79.

## XII. ANEXOS

### 12.1 Consentimiento informado para investigación de uso de enjuague de roble en pacientes con periodontitis Estadio I, II, III y IV.

A través del presente curso, declaro y manifiesto, en pleno uso de mis facultades mentales, la autorización a la investigadora la **C.D. ESP. IRIANA YUNUEN ANGELES ESPINOSA**, para realizar una investigación sobre el uso de enjuague bucal con extracto de **Roble *Quercus spp.*** con la finalidad de determinar el **efecto antiinflamatorio (reducción de inflamación, citotóxico (daño de ADN celular en la mucosa de las mejillas) y antiséptico (antibacterial)**, para el tratamiento coadyuvante para periodontitis estadio I, II, III, IV.

Dicha investigación se lleva a cabo bajo los criterios **para la ejecución de proyectos de investigación del código de Nuremberg, de la declaración de Helsinki 1964**, y con base al **artículo 13, 14, 17 y 21 del reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud, y la NORMA Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012** que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, dicha investigación se clasifica con un **RIESGO MAYOR AL MÍNIMO**.

El objetivo de dicha investigación es evaluar el efecto antimicrobiano, desinflamación gingival, y la citotoxicidad del **enjuague de roble (enjuague herbal)** y comparar los efectos con el enjuague de **clorhexidina (enjuague químico comercial)**, esta investigación busca obtener un enjuague económico, seguro, así como ofrecer otra alternativa adyuvante natural y de bajo costo para el tratamiento periodontal no quirúrgico, además de obtener información de los efectos del enjuague herbal del Roble y del uso tradicional en las comunidades rurales del estado de Hidalgo.

El enjuague a base de **extracto hidroalcohólico de Roble *Quercus spp.*** tiene como propósito principal fungir como un adyuvante (complemento, auxiliar) para el tratamiento periodontal, debido a que la composición principal del mismo son polifenoles y terpenos, estos ingredientes activos han demostrado tener efectos antimicrobianos y antiinflamatorios.

El enjuague bucal ya sea a base de roble o clorhexidina se asignará por medio de un sorteo, el paciente no sabrá que enjuague se le está otorgando ya que solo se les asignaran letras A y B sin anunciar su nombre, se proporcionará para su uso durante 15 días previo al procedimiento de limpieza periodontal (tratamiento periodontal no quirúrgico) dos veces al día media hora después del cepillado durante un minuto, **el mismo no generará costo alguno para el paciente.**

**Los beneficios para el paciente son:**

1. Se entregará un kit de higiene bucal con cepillo dental, hilo dental (flossers), Cepillos interdetales sin costo, se instruirá fisioterapia dental (**no le generará costo alguno**).
2. Se proporcionará diagnóstico, plan de tratamiento y pronóstico periodontal, además de realizar su **tratamiento periodontal no quirúrgico** (eliminación de cálculo supragingival, raspado y alisado radicular, revaloración y alta).

Las ventajas del uso del enjuague bucal de Roble son: efecto antiinflamatorio, disminución de sangrado, disminución de enrojecimiento de encías, potencial

antioxidante, disminución de ulceración de la encía, sensación de frescura, astringente, efecto antimicrobiano, reducción de la acumulación de placa dentobacteriana.

Las desventajas del uso del enjuague bucal de Roble, son principalmente la lentitud de los efectos desinflamatorios y antisépticos, sabor amargo o desagradable y sus efectos secundarios como: Alergias o hipersensibilidad a sus ingredientes activos, ardor, irritación de la mucosa y encías, pigmentación temporal en los dientes, sensación astringente en mucosas y encías.

En el caso de que se haya asignado por medio de sorteo el enjuague de clorhexidina de marca® debe saber que existen efectos secundarios por el uso de dicho enjuague: comezón o ronchas, hinchazón del rostro o las manos, hinchazón u hormigueo en la boca o garganta, opresión en el pecho, dificultad para respirar, alergia. Sarpullido, enrojecimiento, quemazón, comezón o hinchazón o que empeoran en la zona donde se aplicó el enjuague, pigmentación marrón en lengua y dientes transitoria, formación de sarro, disminución de la sensación del sentido gusto.

***Se me ha explicado que en el momento en el que yo decida no ser partícipe de la investigación, dicho documento no me obliga a continuar con la misma y puedo retirar mi consentimiento si así lo decido y finalizar la investigación.***

Se me ha informado que obtendrán información periodontal como lo es: Información sociodemográfica, de salud sistémica y hábitos, así como información clínica como la profundidad de bolsa, nivel de inserción, radiografías dentoalveolares, sangrado al sondeo, tejido queratinizado, encía insertada, además de **8 muestras de las células de su mucosa yugal (del cachete) frotis**, las cuales se analizarán a nivel microscópico para evaluar la función del enjuague a nivel celular y su actividad sobre el ADN, se realizaran encuestas para evaluar la percepción del uso de enjuague.

Se me ha explicado que los resultados obtenidos de dicha investigación serán entregados 15 días hábiles después del uso del enjuague bucal, esto bajo los criterios del **artículo 113 de la Ley Federal de Transparencia y acceso a la Información Pública en México**. Además, de que los datos personales proporcionados para dicha investigación serán procesados bajo lo que indica **la ley General de Protección de Datos Personales en México**.

Se me ha informado que los investigadores se comprometen a salvaguardar la integridad de mi salud y que, en el caso de presentar alguna reacción adversa, tendré atención odontológica oportuna en las clínicas de odontología de la UAEH, además de seguimiento y tratamiento para control de estas en caso de que se presentaran, **lo cual no le generará ningún costo. Deberé informar de manera inmediata si tengo alguna molestia o malestar asociado al enjuague bucal proporcionado y suspenderlo, en el caso de que los resultados indiquen algún daño celular se detendrá dicha investigación para salvaguardar su salud.** Se me ha informado que se cuenta con un protocolo para la atención de efectos adversos y su atención.

Además de que los datos personales proporcionados para dicha investigación serán procesados bajo lo que indica **la ley General de Protección de Datos Personales en México**.

La recolección de la corteza de roble para la elaboración del enjuague bucal herbal, se realizó de manera respetuosa, y se realizará en el transcurso de la investigación la reforestación de 100 árboles de roble, para evitar la depredación de la especie del Árbol.

Bajo protesta de decir verdad manifestó que lo escrito en dicho documento se me ha explicado y se han aclarado mis dudas, por lo cual consiento y autorizo mi participación en la investigación.

**Firma de la investigadora**

**Testigo 1**

**\_Nombre y firma del paciente**

**Fecha**

Se anexa copia de identificación oficial

## 12.1.2. Aprobación del comité de ética del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo  
Instituto de Ciencias de la Salud  
School of Medical Sciences  
Coordinación de Investigación  
Area of Research

San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo a 2 de julio de 2024  
Oficio Comité de Ética ICSa «235» / 2024  
Asunto: DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN.

Zamarripa Calderón Juan Eliezer  
Investigador de la UAEH  
Correo: [eliezerz@uaeh.edu.mx](mailto:eliezerz@uaeh.edu.mx)  
Alumno/Investigador externo: Angeles Espinosa Iriana Yunuen  
Correo: [iriana.yunuen.angeles@gmail.com](mailto:iriana.yunuen.angeles@gmail.com)

**PRESENTE**

**Título del Proyecto:** Efectos del enjuague bucal con extracto de roble (*Quercus spp.*) en pacientes con periodontitis estadio II y III.

Le informamos que su proyecto ha sido evaluado por el Comité de Ética e Investigación del Instituto de Ciencias de la Salud y el dictamen emitido respecto a su proyecto de investigación es:

<b>Decisión</b>
«Aprobado»

Este protocolo tiene vigencia del 2 de julio de 2024 al 2 de julio de 2025.

En caso de requerir una ampliación del plazo, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité la solicitud del motivo junto con un reporte del progreso de avance de su proyecto, al menos 90 días antes de la fecha de término de su vigencia.

Le solicitamos atender las indicaciones realizadas por el revisor -si es el caso-, y enviar la versión corregida de su protocolo para una nueva evaluación, a más tardar 15 días naturales posteriores a la recepción de este documento.

Atentamente

Dra. Itzia María Cazares Palacios  
Presidenta del Comité



Para la validación de este documento informe el siguiente código en la sección Validador de Documentos del sitio web oficial del Comité: «F&uAtD9m1»  
<https://sites.google.com/view/comiteei-icsa/validador-de-documentos>



Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n  
Carretera Pachuca Actopan, San Agustín  
Tlaxiaca, Hidalgo, México. C.P. 42160  
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 4306  
[investigacion\\_icsa@uaeh.edu.mx](mailto:investigacion_icsa@uaeh.edu.mx)

[uaeh.edu.mx](http://uaeh.edu.mx)

## 12.2 Constancia de calibración de clínicos para estudios clínicos periodontales.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
División de Estudios de Posgrado e Investigación y  
SECRETARÍA DE EXTENSIÓN Y VINCULACIÓN



Otorga la presente

# Constancia

IRIANA YUNUEN ANGELES ESPINOSA

A \_\_\_\_\_

“Curso de Calibración de Clínicos para estudios de investigación en Periodoncia”

Realizado en modalidad híbrida del 05 al 07 de marzo de 2024.

Que impartió el Laboratorio de Genética Molecular con certificación ISO 9001:2015,  
del Laboratorio de Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Con un valor curricular de 8 Horas, Folio:

Atentamente  
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Dr. Francisco Javier Marichi  
Director Facultad de Odontología,  
UNAM

Dr. Alejandro Alonso Moctezuma  
Jefe de la División de Estudios de  
Posgrado

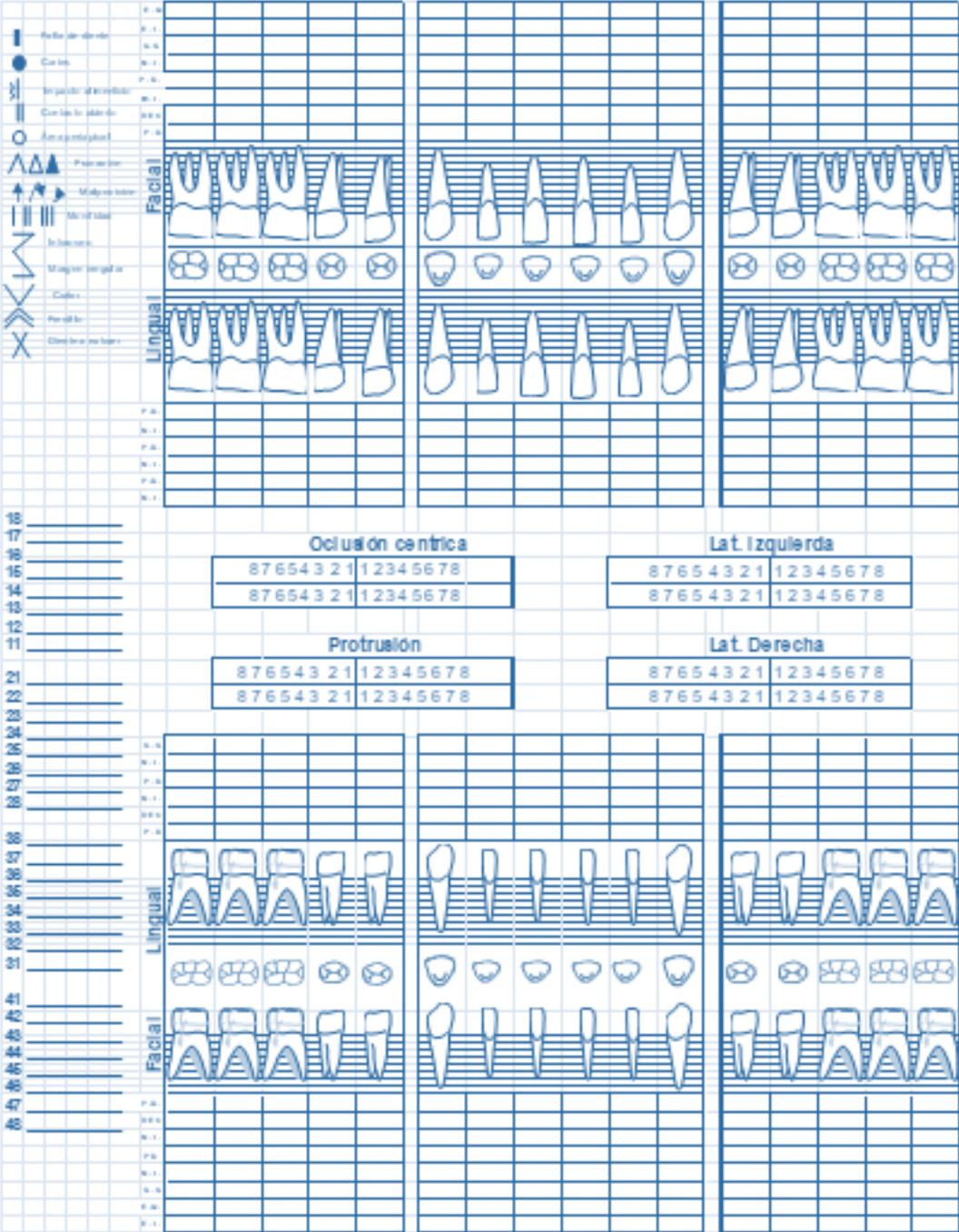
Esp. Ricardo Michigan Ito Medina  
Secretario de Extensión y  
Vinculación

12.2.3 Periodontograma para vaciado de información periodontal.

1

NOMBRE DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_  
 EXPEDIENTE \_\_\_\_\_ DIAGNÓSTICO \_\_\_\_\_





The form consists of a large grid for recording periodontal data. It is divided into three main sections: Maxillary (top), Mandibular (middle), and a lower section for additional teeth. Each section has columns for 'Facial' and 'Lingual' views. The grid includes diagrams of teeth with measurement lines for probing depth, recession, and furcation involvement. A legend on the left side defines the symbols used for these measurements. Below the main grid, there are four boxes for occlusion analysis: 'Oclusión centrada', 'Lat. Izquierda', 'Protrusión', and 'Lat. Derecha', each with a 2x2 grid for recording tooth contact patterns (8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1).

**PERIODONCIA E IMPLANTOLOGIA DRA. YUNUEN**  
**ANGELES ESPINOSA CIRUJANO DENTISTA ESPECIALISTA**