

52



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**“DISEÑO DE UN SISTEMA TERAPEUTICO  
NANOPARTICULADO DESTINADO AL  
TRATAMIENTO DE LA GINGIVITIS Y LA  
PERIODONTITIS”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

**P R E S E N T A :**

**ELIZABETH PIÑON SEGUNDO**

**ASESORES: DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DRA. ADRIANA GANEM RONDERO**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.**

**2000**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ERIDAD NACIONAL  
 AVINOMIA DE  
 MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Diseño de un sistema terapéutico nanoparticulado destinado al tratamiento de la gingivitis y la periodontitis "

que presenta la pasante: Elizabeth Piñón Segundo  
 con número de cuenta: 9352577-8 para obtener el TITULO de:  
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

A T E N T A M E N T E.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 14 de agosto de 2020

PRESIDENTE DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez

VOCAL Dr. David Quintanar Guerrero

SECRETARIO MC. Efrén Hernández Baltazar

PRIMER SUPLENTE M.C. Rafael Villalobos García

SEGUNDO SUPLENTE CFE. Enrique Amador González

## DEDICATORIAS

**A mis padres, Rosario y José Joel**, por ser siempre el mejor ejemplo de fuerza, decisión y empeño. Por su amor, por apoyarme en todo y por respetar mis decisiones.

**A mis hermanos, Alejandra, Sandra José Agustín y David**, por su cariño y comprensión. Porque sé que puedo contar con ustedes en cualquier momento.

**A mi tía Pola**, por habernos cuidado siempre y por ser otra mamá para nosotros.

**A mi abuelito Epigmenio y a mi Tía Juanita**, por sus sabios consejos y por quererme y creer en mí hasta el último momento. Siempre están en mi mente y en mi corazón, nunca los olvidaré.

**A mis amigos**, por estar siempre cerca de mí y por todos los momentos imborrables que he vivido con ellos a lo largo de mi vida; especialmente a: *Lourdes Casillas, Gaby Solís, Chayito Villaseñor, Jasha López, José Luis Cuevas, Enrique Sánchez, Alex Mellado, César Monroy, Arturo Oros, Mariela Cruz, Magda Rico, EricKa Ibarra, Priscilla Reza, Martha Cruz y Liliana Carmona.*

## **AGRADECIMIENTOS**

***A Dios.***

***A mis padres,*** por enseñarme a valorar las cosas y a saber que con constancia y dedicación se puede conseguir lo que uno desea. Gracias a ustedes he logrado ser lo que ahora soy, espero que estén satisfechos de lo que hemos hecho juntos.

***A mis hermanos,*** por todos los momentos que hemos compartido juntos y por apoyarnos siempre unos a otros.

***A mi tía Pola y a mi tío Rubén,*** por apoyarme siempre incondicionalmente, su ayuda ha sido vital para lograr esto.

***A mis amigos y compañeros de la FES-C,*** especialmente a la 20ª generación de QFB's.

**A Adriana Ganem y a David Quintanar**, por su invaluable calidad humana, por compartir conmigo sus conocimientos y por impulsar la realización de este trabajo. Gracias por ayudarme a lograr una de mis metas, pero sobre todo, gracias por confiar en mí.

**A Rafael Villalobos y a Sergio Galindo** por brindarme la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo.

**A la Dra. Suemi Rodríguez**, por todo el apoyo recibido.

**A la Sección de Microscopía Electrónica de la FES-C y al Técnico Rodolfo Robles**, por su asistencia en las pruebas de Microscopía Electrónica de Barrido realizadas.

**Al Técnico Draucín Jiménez del Taller de Soplado de Vidrio de la FES-C**, por su asistencia para la fabricación de algunas piezas utilizadas en este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL.

ÍNDICE GENERAL .....		i
ÍNDICE DE FIGURAS .....		iv
ÍNDICE DE CUADROS .....		vi
I. INTRODUCCIÓN .....		1
II. MARCO TEÓRICO .....		2
1. EL PERIODONTO .....		2
1.1 La encía .....		3
1.1.1 Características clínicas normales .....		4
1.1.2 Características microscópicas normales .....		5
1.1.2.1 Epiteio gingival .....		5
1.1.2.2 Tejido conectivo gingival .....		7
1.1.2.3 Fluido crevicular .....		7
1.2 El ligamento periodontal .....		9
1.2.1 Características microscópicas .....		9
1.3 El cemento radicular .....		9
1.4 El hueso alveolar .....		10
2. ENFERMEDADES PERIODONTALES .....		11
2.1 Enfermedades gingivales .....		13
2.1.1 Tipos de enfermedad gingival .....		13
2.1.2 Curso y duración de la gingivitis .....		14



3.4.2	<i>Sistemas tipo matriz</i> .....	38
3.5	<b>Sistemas de aplicación local disponibles comercialmente.</b> .....	41
4.	<b>NANOPARTÍCULAS (GENERALIDADES)</b> .....	44
III.	<b>OBJETIVOS</b> .....	48
1.1	<b>Objetivo General</b> .....	48
1.2	<b>Objetivos Particulares</b> .....	48
IV.	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	49
1.1	<b>Materiales y reactivos</b> .....	49
1.2	<b>Instrumentos y Equipo</b> .....	49
1.3	<b>Metodología</b> .....	50
V.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	55
VI.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	74
VII.	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	74
VIII.	<b>REFERENCIAS</b> .....	75

## LISTA DE FIGURAS.

<b>1</b>	Estructuras Periodontales. ....	3
<b>2</b>	Representación esquemática de un corte del periodoncio marginal.....	4
<b>3</b>	Evolución de los padecimientos periodontales .....	11
<b>4</b>	Patología Periodontal.....	12
<b>5</b>	Representación esquemática de la formación de una bolsa periodontal.....	16
<b>6</b>	Esquema de una bolsa supraósea y una bolsa infraósea.....	18
<b>7</b>	Mecanismos de formación de la bolsa periodontal.....	19
<b>8</b>	Microfotografía de la placa dental.....	27
<b>9</b>	Esquema de la colocación de PerioChip® y de la aplicación de Atridox <sup>®</sup> .....	43
<b>10</b>	Representación esquemática de la estructura de las nanopartículas	44
<b>11</b>	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión .....	47
<b>12</b>	Mecanismo de formación de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión .....	56
<b>13</b>	Representación de la estructura de los poloxameros .....	57
<b>14</b>	Fotografía de nanoesferas de poliláctico co-glicólico y polivinilalcohol .....	63
<b>15</b>	Comportamiento de la talla de nanopartículas de poliláctico co-glicólico con polivinilalcohol .....	65
<b>16</b>	Fotografía de nanoesferas con poliláctico co-glicólico con 40 mg de triclosán .....	67
<b>17</b>	Fotografía de nanoesferas con poliláctico co-glicólico con 80 mg de triclosán .....	68

<b>18</b>	Fotografía de nanosferas con poliláctico co-glicólico con 120 mg de triclosán .....	69
<b>19</b>	Fotografía de nanosferas con poliláctico co-glicólico con 200 mg de triclosán .....	70
<b>20</b>	Espectrograma para un estándar de polivinilalcohol .....	71
<b>21</b>	Espectrograma para un estándar de triclosán .....	72

## LISTA DE TABLAS.

1	Características de las bolsas periodontales.....	19
2	Índice Gingival de Loe y Silness.....	22
3	Índice de necesidades terapéuticas de una comunidad.....	25
4	Principales patógenos periodontales.....	29
5	Comparación de sistemas de liberación de fármacos para el tratamiento de la Periodontitis.....	33
6	Sistemas de liberación sostenida de aplicación supragingival.....	35
7	Sistemas de liberación sostenida de aplicación subgingival (geles y ungüentos).....	36
8	Sistemas de liberación sostenida de aplicación subgingival (parches y chips).....	37
9	Sistemas de liberación tipo matriz no degradables.....	39
10	Sistemas de liberación tipo matriz degradables.....	40
11	Comparación de sistemas para suministrar fármacos para el tratamiento periodontal disponibles comercialmente.....	42
12	Nanopartículas con fosfatidilcolina .....	59
13	Nanopartículas con Pluronic <sup>®</sup> F127 .....	60
14	Nanopartículas con Polivinilalcohol .....	61
15	Nanopartículas de Resomer <sup>®</sup> RG502 con Polivinilalcohol cargadas con triclosán (talla) .....	65
16	Nanopartículas de Resomer <sup>®</sup> RG502 con Polivinilalcohol cargadas con triclosán (porcentaje de triclosán encapsulado y porcentaje de polivinilalcohol residual).....	73

## **I. INTRODUCCIÓN.**

La región dento-gingival está constituida por un tejido particularmente permeable. Esta característica la convierte en la puerta de entrada de toxinas y productos bacterianos, los cuales generan un ciclo de inflamación conocido como gingivitis/periodontitis caracterizado por la formación de bolsas periodontales. Los métodos convencionales para el tratamiento de las enfermedades periodontales incluyen la remoción mecánica periódica de la placa dental y la administración, tópica o sistémica, de agentes antibacterianos. La efectividad de estos tratamientos es limitada por el difícil acceso a la bolsa periodontal.

Por lo anterior, la actividad del fármaco se ha enfocado al desarrollo de sistemas terapéuticos de liberación controlada que liberen el activo dentro de la bolsa periodontal. Idealmente estos sistemas deben liberar hacia la luz de la bolsa periodontal el agente antibacteriano por periodos de tiempo prolongados y mantener la concentración mínima inhibitoria del desarrollo de los microorganismos patógenos. Por otro lado, diferentes estudios han mostrado la capacidad de algunas partículas de talla nanométrica para llegar a la bolsa periodontal y atravesar el epitelio sulcular.

Considerando la necesidad de utilizar un sistema terapéutico local en el tratamiento de las enfermedades periodontales, se propone el uso de un sistema nanoparticulado, capaz de transportar un principio activo (triclosán) hasta el sitio de acción. Idealmente dicho sistema debe ser capaz de liberar su contenido de manera controlada en un lapso de tiempo conveniente.

## II. MARCO TEÓRICO.

### 1. EL PERIODONTO.

El vocablo periodonto deriva de la raíz latina *peri*, alrededor y del griego *odous*, diente. Se denomina **periodonto**<sup>1</sup> al conjunto de tejidos integrado por la encía (gingiva) y los tejidos de sostén del diente (hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento radicular) (Rateitschak, K. H., 1989 y Medlicott, N.J., et al, 1994). En la figura número 1 se pueden apreciar las principales estructuras que forman parte del periodonto.

El cemento radicular -anatómicamente parte del diente- es considerado parte del periodonto, por tener un origen embrionario común con el ligamento periodontal y el hueso alveolar y por servir, juntamente con estos tejidos, para el sostén del diente y compartir con ellos numerosos procesos nosológicos. Anatómicamente, el término periodonto se restringe para asignar al tejido conectivo interpuesto entre el diente y su cavidad ósea, llamado también periosteo alveolar (Rateitschak, K. H., 1989; Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996 y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

El periodonto está sujeto a variaciones morfológicas y funcionales, así como a los cambios relacionados con el envejecimiento. A continuación se abordan las características normales de los tejidos del periodonto cuyo conocimiento es necesario para comprender las enfermedades periodontales, campo de estudio de la **periodontología**.

---

<sup>1</sup> Sinonimia: diversos términos han sido usados para designar al periodoncio. El término "periodoncio" ha sido usado desde 1914 por la Academia Americana de Periodontología; en Europa se usó desde 1931 el término "paredencio", que luego en 1952 fue cambiado por el de "parodoncio" o "parodonto". (Carranza, F. A. y Sznajder *Compendio de Periodoncia*. 5a. edición. México. Editorial Médica Panamericana. 1996). Preferimos el término "periodonto" por ser el más utilizado en la actualidad.

### 1.1 La encía.

La **mucosa bucal** u **oral** presenta tres tipos de mucosa:

- 1) *Mucosa masticatoria*; presente en la encía y el revestimiento del paladar duro. Es un área queratinizada que normalmente está sujeta a fuerzas mecánicas.
- 2) *Mucosa especializada*; cubre el dorso de la lengua y presenta epitelios con zonas queratinizadas y no queratinizadas.
- 3) *Mucosa de revestimiento*; compuesta por tejido elástico no queratinizado que cubre el resto de la cavidad bucal (labios, paladar blando y el interior de la mejilla).

La **gingiva** o **encía** es la parte de la mucosa bucal situada en las vecindades inmediatas del diente, rodea el cuello de los dientes y es el componente más periférico del periodonto (Rateitschak, K. H., 1989 y Ganem-Quintanar, A., 1997a).

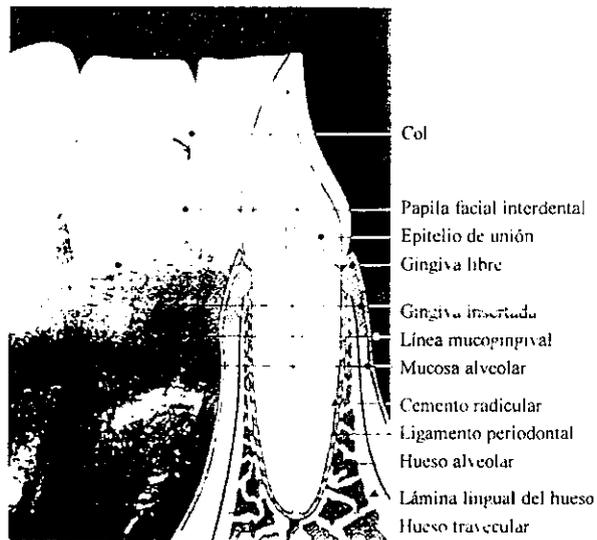
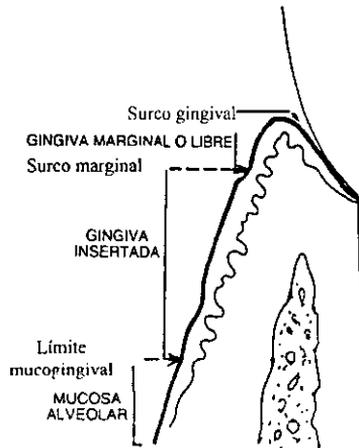


FIGURA No. 1. Estructuras Periodontales. (Rateitschak, K. H., 1989).

### 1.1.1 Características clínicas normales.

Como se aprecia en la figura 2, la encía se divide anatómicamente en encía marginal, que forma el surco gingival; encía adherida y encía interdientaria.



**FIGURA No. 2.** Representación esquemática de un corte del periodoncio marginal por una cara libre (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996)

La **encía marginal, libre** o **no adherida** es la parte de la gingiva situada alrededor del cuello dentario. Tiene normalmente alrededor de 1 mm de ancho y forma la pared externa del surco gingival. Se encuentra limitada en su extremo apical por el **surco marginal**, no siempre claramente visible, que la separa de la gingiva insertada o adherente. Tiene una superficie lisa (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

El **surco gingival** es la depresión de poca profundidad o espacio que rodea al diente, limitado por la superficie del diente por un lado y la cubierta epitelial del margen libre de la encía por el otro. Tiene una profundidad de 1 a

2 mm en caras libres y de 1 a 3 mm en caras proximales (Baker, R. W., et al, 1998).

La **gingiva adherida** o **insertada** es la parte de la gingiva que se extiende entre la gingiva marginal, de la que se encuentra separada por el surco marginal, y la mucosa oral de revestimiento, de la que la separa la *línea* o *límite mucogingival*; dicho con otras palabras, es la continuación de la encía marginal. La línea mucogingival se encuentra bien definida; se nota la separación entre la gingiva insertada, cuya superficie es punteada o graneada y de color rosado, y la mucosa oral, que es lisa y de color más rojizo por la falta de queratinización. La superficie palatina de la encía adherida en el maxilar se desvanece en forma imperceptible con la mucosa del paladar. En el lado lingual de la mandíbula, la encía adherida termina en la unión con la mucosa que cubre el piso de la boca (Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993 y Rateitschak, K. H., 1989).

La **encía interdentaria** ocupa el nicho gingival, que es el espacio interproximal entre las áreas de contacto de los dientes. Suele estar formada por dos papilas, una facial y una lingual, y el col. El *col* es una depresión similar a un valle que une a las papilas y adquiere su forma conforme a las características del área de contacto interproximal. Cuando los dientes no están en contacto, el col suele no existir (Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

### 1.1.2 Características microscópicas normales.

La encía está formada por un núcleo central de tejido conectivo fibroso cubierto por un epitelio escamoso estratificado.

#### 1.1.2.1 Epitelio gingival.

El epitelio gingival está formado por tres áreas: el epitelio bucal o externo, el epitelio del surco y el epitelio de unión.

El **epitelio bucal** o **externo** cubre la cresta y superficie externa en la encía marginal, así como la superficie de la encía insertada. Está formado por epitelio escamoso estratificado queratinizado o paraqueratinizado.

El **epitelio del surco** cubre el surco gingival. Es un epitelio escamoso estratificado delgado y no queratinizado sin prolongaciones o invaginaciones y se extiende desde el límite coronal del epitelio de unión hasta la cresta del margen gingival. Este epitelio no suele estar queratinizado en condiciones normales. El epitelio del surco es muy importante, ya que puede fungir como una membrana semipermeable a través de la cual pasan productos bacterianos lesivos hacia la encía, así como líquido tisular desde la encía hacia el surco (Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993 y Ganem-Quintanar, A., 1997b).

El **epitelio de unión** está formado por una banda a manera de collar de epitelio escamoso estratificado no queratinizado y se origina al erupcionar el diente. Presenta un grosor de tres a cuatro capas celulares en los jóvenes, aunque el número de capas aumenta con la edad hasta alcanzar 10 y aún 20; su longitud varía de 0.25 a 1.35 mm. La inserción del epitelio de unión al diente está reforzada por las fibras gingivales, que dan apoyo a la encía marginal contra la superficie dentaria. Por este motivo, el epitelio de unión y las fibras gingivales forman una unidad funcional, denominada *unión dentogingival* (Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993 y Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

En el epitelio gingival pueden presentarse tres tipos de superficie:

- 1) Queratinización, en la que las células superficiales forman escamas de queratina y pierden sus núcleos. Aparecen gránulos de queratohialina en la capa subsuperficial (capa granular o estrato granuloso);
- 2) Paraqueratinización, en la que las células de las capas superficiales conservan sus núcleos, aunque picnóticos, y revelan signos de estar queratinizados; la capa granular no existe;
- 3) No queratinización, en la que las células de las capas superficiales presentan núcleos y no hay signos de queratinización (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

La cubierta epitelial de la superficie externa de la encía marginal y la encía adherida está queratinizada o paraqueratinizada, o presenta diversas combinaciones de ambas condiciones. El tipo más frecuente de superficie en esta área es la paraqueratinización. La paraqueratinización es mayor en el paladar, seguida por encía, lengua y carrillo, que es la zona menos queratinizada (Schilli, W., et al., 1978 y Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996;).

El epitelio del surco gingival no suele estar queratinizado, sin embargo, posee el potencial para queratinizarse si:

- 1) es expuesto a la cavidad bucal, o
- 2) la flora bacteriana del surco se elimina.

Estos datos sugieren que la irritación local en el surco impide su queratinización (Bral, M. M. y Stahl, S. S. 1977 y Caffesse, R. G., et al. 1997).

El epitelio bucal se renueva constantemente. Su grosor se mantiene por equilibrio entre la formación de células nuevas en las capas basal y espinosa y por descamación de células viejas en la superficie. La tasa de mitosis es más alta en las áreas no queratinizadas y aumenta en la gingivitis. Se ha estimado que el tiempo de recambio en las diferentes áreas del epitelio bucal en animales experimentales es: encía, 10 a 12 días; epitelio de unión, 1 a 6 días (Skougaard, M. R. y Beagrie, G. S. 1962).

#### 1.1.2.2 *Tejido conectivo gingival.*

El tejido conectivo de la encía se conoce como lámina propia. Contiene gran cantidad de fibras colágenas y fibras elásticas. El tejido conectivo de la encía marginal presenta gran cantidad de colágena, conteniendo un importante sistema de haces de fibras colágenas denominadas fibras gingivales. (Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

Además de las fibras colágenas la gingiva contiene fibroblastos, encargados de sintetizar fibras colágenas y fibras elásticas, además de glucoproteínas, glucosaminoglucanos y células cebadas. El conectivo gingival también contiene numerosos mastocitos. Las gingivitis clínicamente sanas también tienen una pequeña cantidad de linfocitos y plasmocitos en las vecindades del fondo del surco gingival, por la presencia constante de un cierto grado de irritación bacteriana. En gingivas absolutamente sanas, obtenidas en forma experimental de animales por la administración prolongada de antibióticos locales y sistémicos, este infiltrado inflamatorio desaparece (Carranza, F. A. y Cabrini, R. L., 1955).

#### 1.1.2.3 *Fluido crevicular.*

El surco gingival y la unión epitelio-diente son bañados por un **fluido gingival** o **fluido crevicular**. El líquido gingival o del surco fluye hacia el surco desde el tejido gingival y conectivo a través de la pared delgada del surco.

Diversos estudios (Cimasoni, G., 1983 y Baker, R. W. et al, 1988) han dado evidencias de que éste fluido:

- 1) limpia el surco, arrastrando mecánicamente partículas tisulares o externas introducidas;
- 2) contiene proteínas plasmáticas que pueden mejorar la adhesión de la inserción epitelial al diente;
- 3) posee propiedades antimicrobianas;
- 4) contiene anticuerpos para defensa inmunitaria de la encía.

El fluido gingival es de origen inflamatorio y existe en encías clínicamente sanas (gingivitis de grado I o lesión inicial), pero no en gingivas absolutamente sanas. La cantidad de fluido gingival varía en relación directa con el grado de inflamación gingival. La medición de la cantidad de fluido, es un método engorroso pero muy sensible para evaluar la inflamación; se utiliza en investigación pero no en la clínica diaria (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

Los sitios sanos son asociados con volúmenes pequeños de fluido crevicular ( $0.04 \mu\text{l}$ ) y velocidades de flujo bajas ( $0.03 \mu\text{l}/\text{min}$ ); en contraste, en sitios enfermos se incrementa la producción de fluido. El fluido de sitios sanos y enfermos tiene una concentración de proteínas similar. El volumen y la velocidad de flujo del fluido dependen del grado de inflamación en sitios individuales (Cimasoni, G., 1983 y Hatting, J. y Ho, E., 1980).

Existen trabajos que reportan diferentes volúmenes y velocidades de flujo para el fluido crevicular en las bolsas periodontales. Hatting y colaboradores (1980) señalan volúmenes de  $0.5 \mu\text{l}$  con flujo de  $0.5 \mu\text{l}/\text{min}$ ; Godson (1989) reporta volúmenes de  $0.5 \mu\text{l}$  con velocidad de flujo de  $0.33 \mu\text{l}/\text{min}$  ( $20 \mu\text{l}/\text{hora}$ ) y Baker y colaboradores (1988) reportan un flujo de  $10 \mu\text{l}/\text{min}$ .

En 1986 Goodson y su equipo determinaron que el fluido gingival se recambia 40 veces por hora y sugieren que este hecho puede influir en el corto tiempo de retención de agentes antibacterianos en la cavidad oral y por tanto en la duración del efecto del tratamiento de la gingivitis con pastas, geles dentales, enjuagues bucales y sistemas de irrigación.

## **1.2 El ligamento periodontal.**

Es el tejido fibroso que une al diente y al hueso, y que en la radiografía se ve como un espacio radiolúcido alrededor del diente. Sus funciones más importantes son:

- a) mecánica, de soporte del diente,
- b) genética, formadora de hueso y cemento, y
- c) nutritiva y sensorial, al proveer nutrición e inervación al cemento y al hueso.

### **1.2.1 Características microscópicas.**

Este tejido está formado en su mayor parte por fibras colágenas llamadas fibras principales o fibras periodontales. La célula más común en el ligamento periodontal es el fibroblasto, encargado de sintetizar colágeno. Además contiene células encargadas de formar y reabsorber cemento (cementoblastos y cementoclastos, respectivamente) y de formar y destruir hueso (osteoblastos y osteoclastos, respectivamente). También contiene los llamados restos epiteliales de Malassez, que son remanentes de la vaina de Hertwig después de que ha terminado su función modeladora de la raíz y que se localizan en pequeños grupos cerca de la superficie cementaria. Si son irritados, pueden proliferar y dar origen a quistes (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996 y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

## **1.3 El cemento radicular.**

Es el tejido mesenquimático calcificado, bastante similar al hueso en sus características fisicoquímicas y estructurales, que cubre la raíz anatómica del diente. Hay dos tipos de cemento: el cemento acelular o primario y el cemento celular o secundario. El primero cubre aproximadamente los dos tercios coronarios de la raíz y no contiene células, mientras que el cemento secundario que se forma después de que el diente entra en oclusión, es más irregular y contiene células llamadas cementocitos, atrapadas en los espacios llamados cementoplastos. Ambos tipos de cemento están constituidos por una matriz interfibrilar calcificada y fibrillas colágenas. La inserción de las fibras principales del ligamento periodontal en el cemento (y en el hueso), se hace

por medio de la incorporación en el cemento de los extremos de las fibras principales. Esta porción de la fibra se llama fibra de Sharpey.

La nutrición del cemento se produce principalmente mediante los cementocitos y sus prolongaciones anastomosadas, y proviene de la superficie periodontal, y en escasa proporción por vía dentinaria. El cemento tiene poca actividad metabólica.

La *unión amelocementaria* es un sector de gran interés puesto que es donde con frecuencia se realiza el tratamiento periodontal básico de raspaje y aislamiento radicular. (Rateitschak, K. H., et al, 1989; Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996 y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

#### 1.4 El hueso alveolar.

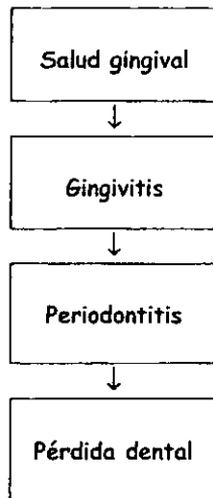
Es la parte de los huesos maxilar superior e inferior que forma los alvéolos dentarios y se continúa con el resto de la estructura ósea. El hueso está constituido por una matriz colágena calcificada, con osteocitos encerrados en espacios denominados lagunas. Los osteocitos tienen prolongaciones que se anastomosan, y atraen oxígeno y sustancias nutritivas a las células. Las dos terceras partes de la estructura ósea están formadas por minerales (calcio, fósforo, carbonatos, etc.) en forma de cristales ultramicroscópicos de hidroxapatita.

La matriz ósea, llamada osteoide, es depositada por osteoblastos, que gradualmente quedan encerrados en la matriz que se va calcificando y pasan a ser osteocitos. La reabsorción del hueso está a cargo de células grandes, multinucleadas, los osteoclastos, que aparecen en erosiones de la superficie ósea llamadas lagunas de Howship (Rateitschak, K. H., et al, 1989; Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996 y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

## 2. ENFERMEDADES PERIODONTALES.

Enfermedad periodontal es un término genérico empleado para todos los tipos de afecciones patológicas de los tejidos periodontales, que incluyen enfermedades neoplásicas, degenerativas e inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias del periodonto abarcan las enfermedades gingivales, enfermedades periodontales y manifestaciones periodontales de enfermedades sistémicas, las dos primeras son las principales causas de pérdida de dientes en adultos (Medlicott, N. J., et al., 1994; Friedman, M., y Steinberg, D., 1990 y Esposito, E. et al., 1997)

La historia natural de los padecimientos inflamatorios del periodonto se describe como un proceso continuo que puede esquematizarse en el siguiente diagrama (figura3):

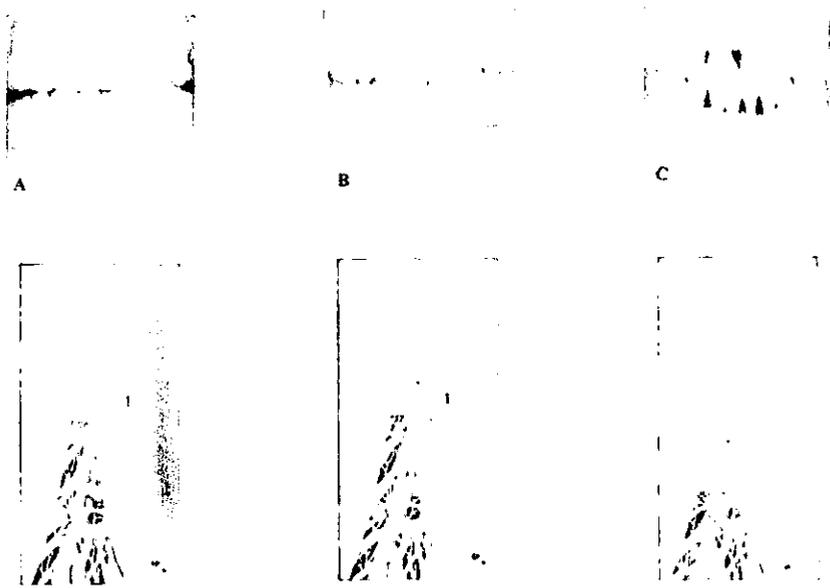


**FIGURA No. 3.** Evolución de los padecimientos periodontales

Se llama *enfermedad gingival* a las alteraciones patológicas de la gingiva; en su enorme mayoría son de tipo inflamatorio y evolucionan hacia una periodontitis. La *periodontitis* se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias gingivales, con formación de una bolsa periodontal que lleva a la pérdida de hueso alveolar y eventualmente a la del diente. Su causa primaria

es infecciosa (placa bacteriana) (Medlicott, N. J., et al., 1994; Friedman, M., y Steinberg, D., 1990 y Lawter, J. R., et al., 1990).

En la siguiente figura (4) puede apreciarse en la parte A una encía sana que presenta aspecto, coloración y consistencia normales; en la parte B un cuadro de gingivitis en el que se aprecia inflamación y bolsa gingival, hay destrucción de la cresta ósea y aumento en la profundidad del surco gingival; finalmente en C un cuadro de periodontitis con pérdida ósea severa y movilidad del diente que causará la pérdida del soporte óseo alveolar.



**FIGURA No. 4.** Patología Periodontal: A) Encía sana, B) Gingivitis y C) Periodontitis

Entre las enfermedades generales que pueden presentar manifestaciones gingivales y periodontales se encuentran enfermedades nutricionales (deficiencias vitamínicas o proteicas, etc.); enfermedades

endócrinas (hipofunción tiroidea, trastornos hipofisarios, hiperparatiroidismo, diabetes mellitus, alteraciones hormonales durante el embarazo, etc.), enfermedades hemáticas (leucemia, agranulocitosis, etc.) e inmunodeficiencias (enfermedad de Chédiak-Higashi, SIDA, etc.) (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

## **2.1 Enfermedades gingivales.**

La gingivitis, o inflamación de la encía, es la forma más común de enfermedad gingival. Existe en todas las formas de enfermedad gingival, ya que la placa bacteriana que causa la inflamación y los factores irritantes que favorecen la acumulación de placa suelen estar presentes en el entorno gingival. La inflamación causada por la placa dentobacteriana da lugar a cambios degenerativos, necróticos y proliferativos en los tejidos gingivales.

### **2.1.1 Tipos de enfermedad gingival.**

El tipo más frecuente de enfermedad gingival es la afección inflamatoria simple causada por placa bacteriana adherida a la superficie de los dientes. Este tipo de gingivitis, llamada en ocasiones gingivitis marginal crónica o gingivitis simple, puede permanecer estática durante periodos indefinidos o puede proceder a la destrucción de las estructuras de soporte (periodontitis). Las causas de esta progresión no se conocen con toda claridad (Genko, R. J., et al., 1993).

Además la encía puede presentar síntomas de otras enfermedades, en ocasiones relacionadas con problemas periodontales comunes. Algunas de estas afecciones se enlistan a continuación:

- ◆ Gingivitis ulceronecrosante aguda;
- ◆ Gingivostomatitis herpética aguda y otras enfermedades virales;
- ◆ Gingivitis alérgica, causada por diversas alergias;
- ◆ Dermatitis diversas que atacan a los tejidos gingivales y producen tipos característicos de enfermedad gingival, como los observados en pénfigo, eritema polimorfo y otros;
- ◆ Gingivitis de origen bacteriano pero modificadas por factores sistémicos, por ejemplo nutricionales (deficiencia de vitamina C), hormonales (diabetes, embarazo, pubertad), hemáticos (leucemia) o inmunitarios;

Agrandamientos gingivales -aumento del volumen de la encía-, como resultado de la administración de fármacos como fenitoína, ciclosporina, nifedipina, verapamín y otros) (Scheinkeín, H. A. et al., 1998; Kinane, D. F. y Raduar, M., 1997; Belting, C.M., et al. 1964; Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996. y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

### **2.1.2 Curso y duración de la gingivitis.**

La *gingivitis aguda* suele ser una afección dolorosa de aparición repentina y de corta duración. La *gingivitis subaguda* constituye una fase menos intensa de la afección aguda. La *gingivitis recurrente* es una enfermedad que vuelve a aparecer después de haber sido eliminada por el tratamiento o que desaparece en forma espontánea y vuelve a aparecer.

La *gingivitis crónica* es el tipo más frecuente. Esta enfermedad es de aparición lenta, larga duración y suele ser indolora, salvo que se complique por exacerbaciones agudas o subyugadas. La gingivitis crónica es una enfermedad fluctuante en la que las zonas inflamadas persisten o se tornan normales y las áreas normales se inflaman (Hoover, D. R. y Lefkowitz, W. K., 1965 y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993).

### **2.1.3 Patología de la gingivitis.**

La gingivitis se relaciona con la presencia de microorganismos bucales en el surco gingival. Estos organismos son capaces de sintetizar productos lesivos en potencia que causan daño a los componentes intercelulares, tales como colágena, sustancia fundamental amorfa, glucocáliz (cubierta de las células), así como a las células de los tejidos epitelial y conectivo. El ensanchamiento resultante de los espacios intercelulares entre las células del epitelio de unión durante la gingivitis incipiente puede permitir el paso de agentes nocivos derivados de las bacterias, o las bacterias mismas al tejido conectivo. La primera reacción a la inflamación gingival inicial son los cambios vasculares, que dan como resultado una *gingivitis subclínica, clínicamente sana o de grado I*. El ensanchamiento de los pequeños capilares o vénulas y la adherencia de los neutrófilos ocurren en una semana y en ocasiones tan pronto como dos días después que se ha permitido la acumulación de placa.

Los leucocitos, principalmente leucocitos neutrófilos polimorfonucleares (PMN), pasan a través de los vasos y se observan en gran cantidad en el tejido conectivo, epitelio de unión y surco gingival. La acumulación de leucocitos se relaciona con aumento del flujo de líquido gingival hacia el surco (Attstrom, R. y Egelberg, 1970).

Al progresar las lesiones hasta *gingivitis de grado II*, se presenta eritema clínico por la proliferación de capilares y aumento en la formación de asas capilares entre las prolongaciones epiteliales hacia el tejido conectivo. Asimismo, ocurre sangrado al realizar el sondeo y se intensifica la reacción de las células inflamatorias. La infiltración leucocitaria está formada principalmente por linfocitos (75%), aunque también por algunos de los neutrófilos migrantes, macrófagos, células plasmáticas y células cebadas. El epitelio de unión se infiltra intensamente con neutrófilos y aumenta la destrucción de colágena.

En la *gingivitis de larga duración o de grado III*, los vasos sanguíneos se congestionan y se compromete el retorno venoso. El resultado es anoxia gingival localizada, que agrega un tono azulado a la encía ya enrojecida. La extravasación de eritrocitos hacia el tejido conectivo y la destrucción de la hemoglobina en sus pigmentos también puede profundizar el color de la encía con inflamación crónica. Se observa una intensa reacción inflamatoria, y las células plasmáticas son el tipo predominante. El epitelio de unión forma prolongaciones hacia el tejido conectivo, la lámina basal se destruye en algunas áreas, y aumenta la destrucción de colágena (Attstrom, R. y Egelberg, 1970; Genko, R. J., et al., 1993 y Rateitschak, K. H., et al., 1989).

## **2.2 Periodontitis.**

La *periodontitis*, como se señaló anteriormente, se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias gingivales, con formación de una bolsa periodontal que lleva a la pérdida de hueso alveolar y eventualmente a la del diente.

La periodontitis puede ser clasificada de la siguiente manera:

- A) *Periodontitis marginal o simple de los adultos*: Se caracteriza por la formación de bolsas y pérdida de hueso y puede presentarse en forma progresiva lenta o progresiva rápida.

- B) *Periodontitis compuesta*: Consta de periodontitis marginal con cambios adicionales provocados por el traumatismo oclusal.
- C) *Formas juveniles de la periodontitis*: Pueden presentarse de manera generalizada o localizada; las lesiones periodontales son provocadas por fuerzas excesivas (Scheinkein, H. A. et al., 1998 y Loe, H. y Brown, L. J., 1993).

Debido a que la periodontitis simple es el padecimiento más común, nos enfocaremos al estudio de ésta y para comprenderla mejor hablaremos primeramente de las bolsas periodontales.

### 2.2.1 Bolsa periodontal.

La bolsa periodontal se define como un surco gingival patológicamente profundizado, puede apreciarse en la figura 5. Es una de las características clínicas más importantes de la enfermedad periodontal que conduce a la destrucción de los tejidos periodontales de soporte y la pérdida de los dientes (Baker, R. W. et al., 1998 y Medlicott, N. J., et al., 1994).

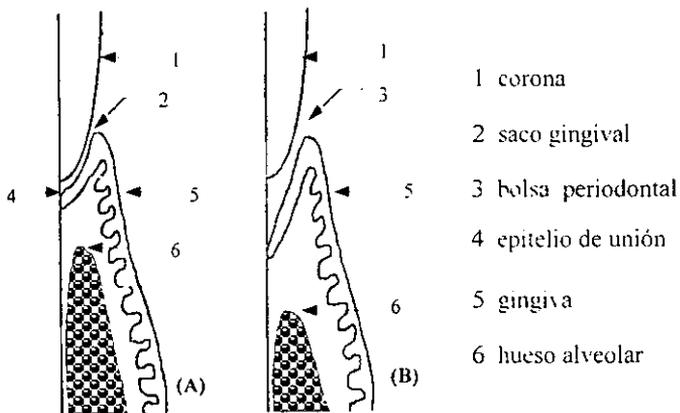


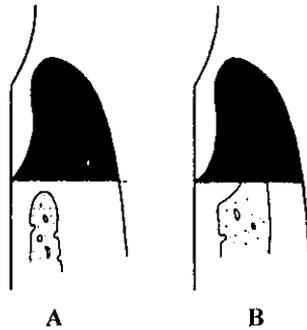
FIGURA No. 5. Formación de la bolsa periodontal: A) Saco gingival sano, B) Bolsa periodontal.

Las bolsas periodontales suelen ser indoloras, aunque pueden dar lugar a los siguientes síntomas: dolor localizado o sensación de presión después de comer, que disminuye gradualmente; gusto o sabor desagradable en áreas localizadas, pues se presenta sangrado gingival y en ocasiones exudado purulento; dolor radiante “profundo dentro del hueso”, y dolor dentario en ausencia de caries. Sin embargo el único método confiable para la localización de las bolsas periodontales y la determinación de su extensión es el sondeo cuidadoso del margen gingival a lo largo de cada superficie dentaria (Genko, R. J., et al., 1993 y Rateitschak, K. H., et al., 1989).

### **2.2.3 Clasificación de las bolsas periodontales.**

Las bolsas periodontales se clasifican en bolsas gingivales y bolsas periodontales, según su morfología y relación con las estructuras adyacentes. La **bolsa gingival** se forma por agrandamiento de la encía sin destrucción de los tejidos periodontales subyacentes. El surco se profundiza debido al aumento de volumen de la encía. Las **bolsas periodontales** se presentan cuando los tejidos periodontales y de soporte son destruidos y, tal como se aprecia en la figura 6, pueden ser de dos tipos:

- 1) *Supraóseas, supracrestales o supraalveolares* en las que el fondo de la bolsa se encuentra en dirección coronaria al hueso alveolar subyacente.
- 2) *Infraóseas, intraóseas, subcrestales o intraalveolares* en las que el fondo de la bolsa se encuentra en dirección apical respecto del nivel del hueso alveolar adyacente. En este tipo la pared lateral de la bolsa se encuentra entre la superficie dentaria y el hueso alveolar.

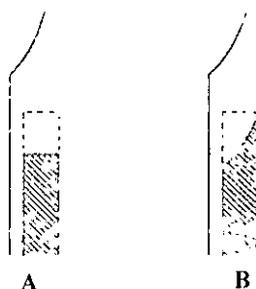


**FIGURA No. 6.** A. Bolsa supraósea: la pared externa de la bolsa (sombreado) solo incluye tejido gingival. B. Bolsa infraósea; la pared externa de la bolsa (sombreado) incluye además de la gingiva, tejido óseo (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

Las principales diferencias entre las bolsas infraóseas y supraóseas son las relaciones de la pared blanda de tejido de la bolsa con el hueso alveolar, el patrón de destrucción ósea y la dirección de las fibras transeptales del ligamento periodontal (Carranza, F. A. y Glickman, I., 1957 y Carranza, F. A. y Perry, D. A., 1993). Estas características se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Características principales de las bolsas periodontales (Modificado de Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

Bolsas supraóseas	Bolsas infraóseas
1) La base de la bolsa se encuentra en dirección coronal respecto del nivel del hueso alveolar	1) La base de la bolsa se encuentra en dirección apical respecto del nivel del hueso alveolar, por lo que el hueso está adyacente a la pared de tejido blando
2) El patrón de destrucción del hueso subyacente es horizontal (Ver figura 7A)	2) El patrón de destrucción ósea es vertical y angular (Ver figura 7B)
3) En la zona interproximal, las fibras transeptales que han sido restauradas en el transcurso de la enfermedad periodontal progresiva se encuentran dispuestas horizontalmente entre el espacio de la base de la bolsa y el hueso alveolar	3) En la zona interproximal, las fibras transeptales son oblicuas. Se extienden desde el cemento bajo la base de la bolsa a lo largo del hueso, y sobre la cresta del cemento del diente adyacente
4) En las superficies facial y lingual, las fibras del ligamento periodontal bajo la bolsa siguen su curso normal horizontal oblicuo entre el diente y el hueso	4) Sobre las superficies facial y lingual, las fibras del ligamento periodontal siguen el patrón angular del hueso adyacente



**FIGURA No. 7.** A: Pérdida ósea horizontal. B: Pérdida ósea vertical. (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

Las bolsas periodontales son causadas por microorganismos y sus productos, los cuales producen cambios patológicos en los tejidos que conducen a la profundización del surco gingival. Los cambios que causan la transición de un surco gingival normal a una bolsa periodontal patológica se relacionan con las diferentes proporciones de bacterias en la placa dental. La encía sana se relaciona con pocos microorganismos, principalmente cocos y bacilos rectos. La encía enferma se debe en mayor porcentaje a espiroquetas y bacilos móviles (Slots, J., 1979 y Listgarten, M. A., 1986).

La formación de bolsas principia con un cambio inflamatorio en la pared de tejido conectivo del surco gingival causado por la placa bacteriana. El exudado celular inflamatorio provoca la degeneración del tejido conectivo circundante, incluyendo las fibras gingivales. Si persiste la inflamación, la encía aumenta de volumen y la cresta del margen gingival se extiende hacia la corona. El epitelio de unión continúa desplazándose a lo largo de la raíz y separándose de la misma. El epitelio lateral de la pared de la bolsa prolifera para formar extensiones a manera de cuerda hacia el tejido conectivo inflamado. Los leucocitos y el edema del tejido conectivo inflamado infiltran la capa epitelial de la bolsa, dando como resultado diversos grados de degeneración y necrosis.

La transformación del surco gingival en una bolsa periodontal crea un área en la que se imposibilita la eliminación de la placa, causando por tanto mayor inflamación gingival, que favorece la formación de bolsas y permite mayor acumulación de placa.

Las bolsas periodontales contienen residuos consistentes en microorganismos y sus productos (enzimas, endotoxinas y otros productos metabólicos), placa dental, líquido gingival, células epiteliales descamadas y leucocitos. El sarro cubierto de placa suele proyectarse desde la superficie dentaria. Si hay exudado purulento, estará formado por leucocitos vivos, degenerados y necrosados (predominantemente polimorfonucleares), bacterias vivas y muertas, suero y una pequeña cantidad de fibrina (Loesche, W. J., et al. 1985 y Slots, J. 1979).

El contenido de bolsas periodontales que ha sido filtrado libre de microorganismos ha demostrado ser tóxico cuando se inyecta por vía subcutánea a animales de experimentación (Graham, J. W., 1937).

## 2.3 EPIDEMIOLOGÍA.

La epidemiología estudia la aparición y distribución de las enfermedades en la población así como los factores que influyen en ellas. Su campo, que tiene principios, terminología y métodos específicos, se divide en epidemiología descriptiva, analítica y experimental.

En lo que se refiere a las enfermedades periodontales, la **epidemiología descriptiva** se ocupa del estudio de su aparición (prevalencia o incidencia, o ambas) distribución y evolución, como también de su relación con la edad, el sexo, las características étnicas, el nivel socioeconómico, el lugar de residencia y otras variables, y su vinculación con factores etiológicos.

La **epidemiología analítica** investiga, por medio de estudios retrospectivos y prospectivos, las hipótesis derivadas de la epidemiología descriptiva, a fin de determinar los factores determinantes de la enfermedad y los procesos patogénicos. La **epidemiología experimental** analiza la eficacia de los procedimientos terapéuticos y preventivos (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

Para estudiar, evaluar y asegurar la eficacia de los tratamientos propuestos para la enfermedad periodontal se cuenta con una serie de índices y medidas físicas que permiten estimar el grado de acumulación de la placa y de inflamación tisular (Medlicott, N. J., et al., 1994).

### 2.3.1 Índices.

Son unidades de medida que permiten registrar las observaciones en una escala graduada siguiendo patrones establecidos. Deben definir las condiciones clínicas en forma objetiva, ser altamente reproducibles, ser fáciles de usar y sus resultados deben poder ser analizados estadísticamente. En los últimos cincuenta años se han desarrollado numerosos índices; aquí se presentarán solo aquellos que se continúan utilizando en la actualidad. De acuerdo con la variable que miden pueden ser agrupados en:

- ◆ Índices gingivales, que miden el grado de inflamación gingival;
- ◆ Índices periodontales, que miden la destrucción periodontal;
- ◆ Índices de placa, que miden la cantidad de placa acumulada; e
- ◆ Índices de cálculos, que miden la cantidad de cálculos supragingivales o subgingivales, o ambos, presentes (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

2.3.2.1 Índices gingivales.

El más utilizado es el **Índice Gingival: GI**, por sus siglas en inglés (Gingival Index), desarrollado por Løe y Silness, que evalúa la existencia y severidad de la lesión gingival en una escala graduada de 0 a 3. Se examinan los cuatro lados del diente, se suman los resultados y se calcula el promedio; se puede registrar así el índice de cada diente, de varios, de un individuo o de un grupo. En la siguiente tabla (2) se muestran las características clínicas y los valores asignados a ellas, según el GI.

**Tabla 2.** Índice Gingival (GI) de Løe y Silness.

Índice Gingival (GI) de Løe y Silness	
Valor	Características Clínicas
0	Encía normal.
1	Inflamación leve, cambio de color, edema leve, no sangra al sondaje.
2	Inflamación moderada; encía roja, brillante, edematizada, sangra al sondaje.
3	Inflamación severa, marcado aumento de color y edema, ulceración, tendencia a hemorragia espontánea.

Otros índices gingivales muy usados son los del sangrado al sondaje. Mühlemann y colaboradores consideraron que el sangrado al sondaje precede a los signos visuales de inflamación y describieron el llamado **índice de sangrado gingival: SBI**, por sus siglas en inglés (Sulcus Bleeding Index). El GI y el SBI combinan los signos visuales de la inflamación gingival con el sangrado al sondaje.

Otros índices registran si hay sangrado de la papila interdental al tocarla con un hilo encerado (Carter y Barnes) o con un palillo triangular de madera (Smit-U-Dents) (Caton y Polson). Estos índices pueden ser utilizados para autoevaluación del estado gingival por parte del paciente (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

### 2.3.1.2 Índices periodontales.

La evaluación de la destrucción periodontal puede realizarse a) midiendo clínicamente el soporte periodontal perdido, o b) midiendo radiográficamente la pérdida ósea.

- a) Para la evaluación clínica de la pérdida de inserción se puede utilizar la técnica descrita por Ramfjord en su **PDI** (siglas en inglés de Periodontal Disease Index), que registra el nivel de inserción desde el límite amelocementario hasta el fondo del surco/bolsa con una sonda marcada con intervalos preestablecidos (por ejemplo, 3, 6 y 8 mm, o 3, 6, 9 y 12 mm). Esta técnica adjudica un valor numérico al medido en la forma siguiente: 0-3 mm, cuatro; 3-6 mm, cinco y más de 6 mm, seis. Esto luego fue modificado y se registra directamente la pérdida de inserción en milímetros.
- b) Evaluación radiográfica. Aunque las radiografías constituyen un registro permanente del nivel óseo interdentario, tienen limitaciones. Por otra parte, para estudios epidemiológicos de poblaciones numerosas el registro radiográfico requiere mucho tiempo y es costoso. En cambio, es útil para registrar cambios del nivel óseo en estudios descriptivos longitudinales de poblaciones poco numerosas o en estudios clínicos, terapéuticos o preventivos (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

### 2.3.1.3 Índices de placa.

Pueden dividirse en tres grupos: a) los que evalúan la superficie dentaria cubierta por placa, b) los que evalúan el espesor de la placa en el sector gingival y c) los que evalúan presencia o ausencia de placa (sistema binario).

- a) La mayoría de estos índices miden en una escala numérica la extensión de la placa sobre la superficie dentaria. Entre ellos, el índice de Greene y Vermillion, el de Quigley y Hein, el índice de placa que acompaña al índice PDI de Ramfjord y el índice de O'Leary han sido los más usados. En algunos de ellos se aconseja usar soluciones revelantes para visualizar mejor la placa.
- b) El **índice de placa** de Silness y Loe (**PII**, por sus siglas en inglés), es el más usado en la actualidad y evalúa el espesor de la placa existente en el sector gingival, utilizando un explorador y el espejo dental. Se examinan 4

superficies dentarias (distobucal, bucal, mesiobucal y lingual) y se obtiene el promedio, que es el índice del diente. Sumando el PII de todos los dientes y dividiendo el resultado por el número de dientes se obtiene el PII para el individuo. Se puede registrar toda la dentición o un segmento de ella.

- c) O'Leary y colaboradores crearon el índice de presencia o ausencia de placa, que se utiliza comúnmente en la clínica para evaluar y mostrar al paciente la eficacia de su eliminación diaria. El registro de presencia o ausencia de placa, con coloración previa o sin ella, se puede hacer por observación visual o deslizando la sonda o explorador por el surco, para constatar si se levanta o no la placa (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

#### *2.3.1.4 Índices de cálculos.*

El índice de cálculos de Volpe y Manhold mide, con una sonda milimetrada, la extensión de los depósitos calcificados sobre las superficies linguales de los 6 dientes anteriores inferiores; se practican 3 mediciones en cada diente, una axial y dos en diagonal mesioincisal y distoincisal. La suma de los milímetros registrados constituye el índice. Es útil en investigaciones clínicas para evaluar agentes anticálculo.

El índice de superficie con cálculos de Ennever y colaboradores registra presencia o ausencia de cálculos supragingivales o subgingivales, o ambos, en lingual de los cuatro incisivos inferiores, por examen visual o táctil pasando un instrumento sobre la superficie dentaria (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

#### *2.3.1.5 Índices que evalúan la necesidad de tratamiento periodontal.*

Sobre la base de estos índices se puede calcular el tiempo y el costo necesarios para tratar una población, así como el tipo de capacitación que debe tener el personal que llevará a cabo esos tratamientos. El más utilizado con este fin es el **índice de necesidades terapéuticas de una comunidad** o **CPITN** (por sus siglas en inglés, Community Periodontal Index of Treatment Needs), elaborado por encargo de la Organización Mundial de la Salud y la Federación Dental Internacional.

El CPITN combina los elementos de otros índices y evalúa cuatro indicadores: sangrado al sondaje suave, cálculos y bolsa moderada o profunda, con un sistema binario: presencia o ausencia. Se utiliza una sonda especialmente diseñada que tiene una esfera de 0.5 mm de diámetro en la punta (para facilitar la detección de cálculos subgingivales y disminuir el riesgo de sobreestimar la profundidad de la bolsa) y una banda coloreada ubicada entre los milímetros 3.5 y 5.5, para facilitar la rapidez de la lectura de la profundidad de la bolsa. Se divide la boca en sextantes y se examinan todos los dientes presentes en cada uno, pero sólo se registra el valor del sitio que presenta la mayor severidad de cada sextante. En la siguiente tabla (3) se resume la relación entre el estado periodontal y la necesidad de tratamiento según el CPITN (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

**Tabla 3.** Índice de necesidades terapéuticas de una comunidad (CPITN)

<b>Índice de necesidades terapéuticas de una comunidad (CPITN)</b>	
<b>Estado periodontal</b>	<b>Necesidad de tratamiento</b>
0 = no hay patología	0 = no necesita tratamiento
1 = sangrado al sondaje suave	1 = enseñanza de técnicas de higiene bucal
2 = cálculos supragingivales o subgingivales, o ambos	2 = 1 + raspaje
3 = bolsas de 4 ó 5 mm	3 = 1 + 2 + alisado radicular
4 = bolsas de 6 mm ó más	4 = 1 + 3 + acceso quirúrgico a las superficies radiculares infectadas

En la década de los ochentas, la Academia Americana de Periodontología y la Asociación Dental Americana (USA) han propuesto un sistema basado en el CPITN llamado PSR (por sus siglas en inglés Periodontal Screening and Recording), para ser usado por dentistas generales para diagnosticar, en forma rápida y sencilla, la presencia y severidad de la enfermedad periodontal en un paciente y determinar sus necesidades de tratamiento (Ainamo, J., et al., 1982 y Ainamo, J., 1989).

## 2.4 MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA PERIODONTALES.

### 2.4.1 Índole infecciosa de la enfermedad periodontal.

Existe una estrecha relación de causa-efecto entre la formación de placa bacteriana y la respuesta inflamatoria gingival. Esto ha sido comprobado tanto en seres humanos como en animales de laboratorio (Jernberg, G. R., 1987; Loesche, W. J., 1986; Friedman, M., y Steinberg, D., 1990 y Medicott, N. J., et al., 1994).

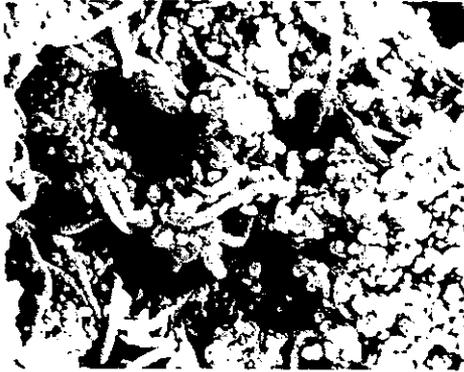
La placa bacteriana fue inicialmente descrita por J. León Williams en 1897 y se le consideró relacionada con la caries dental; más de medio siglo después los trabajos de Harold Løe y colaboradores (1965) aclararon la estrecha relación entre la placa bacteriana y las enfermedades periodontales. En dichos estudios se pidió a los sujetos evitar cualquier procedimiento de higiene bucal; en un periodo de 10 a 21 días, todos acumularon placa dental y desarrollaron gingivitis marginal. La restitución de la higiene bucal trajo como resultado la eliminación de la placa acumulada y el alivio de la gingivitis marginal, por tanto dichos estudios demostraron que la placa dental es causa de la gingivitis en el ser humano (Løe, H. et al., 1965).

Otra evidencia que justifica la índole infecciosa de la enfermedad periodontal, se refiere al tratamiento de la periodontitis. La terapéutica que reduce el número total de microorganismos de la placa y elimina ciertas especies microbianas se correlaciona con mejoría clínica. Muchos estudios clínicos muestran que la enfermedad periodontal se detiene en pacientes que mantienen un control meticuloso de placa después del desbridamiento de lesiones gingivales y aquellos pacientes que no tienen un cuidado adecuado vuelven a presentar cuadros clínicos patológicos (Axelsson, P. y Lindhe, J., 1981a; Axelsson y Lindhe, J., 1981b; Lindhe, J. et al., 1984 y Rosling, B., 1976).

Varios estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado la patogenicidad de los microorganismos de la placa dental. Se refieren muchos casos en los cuales los microorganismos bucales causan infecciones graves, que incluso ponen en peligro la vida, aún cuando se localizan en sitios extrabucales (Pierce 1984, Zambon 1985 Siegrist 1982). Muchos microorganismos que se encuentran en la placa dental humana pueden provocar enfermedades periodontales después de la implantación bucal en animales (Holt, S. C., 1988; Chang, K. M., 1988; Lawter, J. R., et al., 1990 y Baker, R. W. et al., 1988).

#### 2.4.2 Placa bacteriana o placa dental.

La placa bacteriana es una película transparente e incolora, adherida al diente, compuesta por diversas bacterias y células descamadas, leucocitos y macrófagos, dentro de una matriz de proteínas y polímeros naturales (mucopolisacáridos, por ejemplo), también es formada por restos de comida, azúcares y harinas en la boca. (Hill, I. D., et al., 1995; Hill, I. D., et al., 1997 y Cummins, D., et al. 1996). Aproximadamente las tres cuartas partes de la placa están constituidas por bacterias vivas y en proliferación, las cuales corresponden a cerca de 300 especies y subespecies bacterianas (Moore, W., et al., 1982; Slots, J. y Genko, R. J., 1984). La placa dental, en especial en sus estados iniciales, no es visible; para detectarla se le debe colorear con sustancias denominadas revelantes. En la figura 8 se muestra una microfotografía de la placa dental.



**FIGURA No. 8.** Placa dental, fotografía tomada por microscopia electrónica de barrido, 300x (Tomada de Chemistry and Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry, 1992).

La placa bacteriana no sólo se forma sobre la superficie del diente (esmalte o cemento) sino también sobre restauraciones, prótesis, implantes y aparatos ortodóncicos. Puede ser supragingival o subgingival, según se encuentre por encima o por debajo del margen gingival. La formación de la placa bacteriana se inicia con la deposición de una cutícula o película acelular de un espesor de alrededor de un micron. De acuerdo con su localización, supragingival o subgingival, esta película es de origen salival o derivada del

fluido gingival. La cutícula acelular es subsecuentemente colonizada por bacterias en la siguiente forma:

- en los primeros dos días proliferan los microorganismos aerobios grampositivos de la flora normal, que tienen capacidad de adherirse a la película, tales como el *Actinomyces viscosus* (bacilo grampositivo anaerobio facultativo) y *Streptococcus sanguis* (coco positivo anaerobio facultativo);
- luego comienza una transición hacia especies facultativas grampositivas;
- finalmente, al crearse un medio privado de oxígeno aparecen microorganismos anaerobios gramnegativos.
- Se presentan también colonizadores secundarios; éstos son microorganismos que no pueden adherirse a la superficie dentaria o a la película, pero sí a otras especies bacterianas que forman las primeras capas, en un proceso llamado coagregación. Por ejemplo, *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

La placa bacteriana contiene además una matriz interbacteriana constituida por material orgánico de origen salival y restos de bacterias autolisadas, células descamadas, etc. La mayor parte del material extracelular de la placa es dextrano, que es un polisacárido formado por las bacterias a partir de la sacarosa (Hill, I. D., et al., 1997).

La flora microbacteriana cultivada obtenida de pacientes sanos, se caracteriza por el predominio de la cantidad de bacterias gram (+). En gingivitis los cultivos muestran un marcado incremento en el número de bacterias gram (-) (45%), y al microscopio de contraste de fase se ve un número sustancial de bacilos móviles y espiroquetas. En periodontitis, predominan los bacilos anaerobios gram negativos (75%) y al microscopio de contraste de fase se puede ver un 30-35% de bacilos móviles y espiroquetas (Slots, J., 1979 y Socransky, S. S. y Haffajee, A. D., 1992).

La mayoría de los patógenos periodontales son parte de la flora comensal de la cavidad oral humana y sólo en algunas ocasiones existe infección por bacilos entéricos gramnegativos, pseudomonas, estafilococos y/u hongos (estos microorganismos pueden a menudo presentarse por el uso prolongado de antibióticos) (Rateitschak, K. H., et al., 1989).

Más de 300 tipos de bacterias han sido identificadas dentro del saco periodontal. Sin embargo hasta hoy solo una pocas especies han sido fuertemente asociadas con la enfermedad periodontal; éstas son presentadas en la tabla 4 (Baker, R. W. et al., 1988; Tanner, A. C. et al., 1984; Slots, J. y Genco, R. J., 1984; Slots, J., 1986a; Slots, J., et al., 1986b y Dzink, J. L. et al., 1988).

Tabla 4. Principales patógenos periodontales.

Patógenos periodontales	
Gram (-) anaeróbicos obligados	Gram (-) anaeróbicos facultativos
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>Capnocytophaga</i>
<i>B. gingivalis</i>	<i>C. gingivalis</i>
<i>B. intermedius</i>	<i>C. ochracea</i>
<i>B. forsythus</i>	<i>C. sputigena</i>
<i>B. denticola</i>	
<i>B. loescheii</i>	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	
<i>Selenomonas spp</i>	
<i>Campylobacter spp</i>	
<i>Wolinella recta</i>	

#### 2.4.3 Factores de patogenicidad de los microorganismos periodontales.

Los factores que permiten que una bacteria cause una enfermedad se denominan *factores de virulencia*. La adherencia bacteriana es un importante factor de virulencia demostrado para bacterias como *Porphyromonas gingivalis*. La penetración de las bacterias en los tejidos, a través de bacterias en los tejidos, a través de ulceraciones en la pared de la bolsa periodontal o por perforación de los espacios intercelulares del epitelio, ha sido descrita para el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*, entre otros. Una vez en los tejidos las bacterias usan diversas estrategias para evadir la acción de las defensas del huésped; éstas consisten en la producción de sustancias que neutralizan la acción de los leucocitos polimorfonucleares o de los linfocitos. o ambos, lo que impide la fagocitosis (Zambon, J. J. et al., 1985; Slots, J., 1979 y Newman, M. G. y Socransky, S. S., 1977).

#### **2.4.4 Factores que favorecen la acumulación de placa.**

Existen numerosos factores que posibilitan el contacto íntimo y prolongado de la placa bacteriana con los tejidos gingivales, lo que favorece su acción patogénica (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996). Entre éstos podemos citar los siguientes:

- **Cálculos.**
- **Caries.**
- **Empaquetamiento de comida:** Es la introducción forzada en un espacio interdental de restos alimenticios impelidos por las fuerzas oclusales.
- **Odontología iatrogénica:** Si las obturaciones situadas cerca de la gingiva no reúnen las características necesarias, producen lesiones gingivales. Las obturaciones deben presentar una superficie lisa y pulida para evitar la acumulación de bacterias. También el dentista puede provocar lesiones gingivales por diversas maniobras operatorias hechas sin el necesario cuidado y respeto por los tejidos blandos, o bien, por la colocación descuidada de bandas ortodóncicas, matrices, amalgamas y coronas temporarias no bien adaptadas que pueden originar lesiones gingivales.
- **Respiración bucal:** Provoca un agrandamiento gingival marginal.
- **Tabaco:** Fumado o masticado, acelera el proceso de la enfermedad periodontal y retrasa la cicatrización después del tratamiento periodontal.

### **3. PLAN DE TRATAMIENTO PERIODONTAL.**

El tratamiento periodontal tiene una doble finalidad: la eliminación total de la enfermedad y el mantenimiento de la salud periodontal. Para obtener ésto es necesario:

- Eliminar las causas de la enfermedad,
- Corregir las deformaciones creadas por ella,
- Establecer un sistema de medidas preventivas para reducir las posibilidades de que se vuelva a presentar la enfermedad.

En general, el objetivo del tratamiento es eliminar la placa bacteriana y crear las condiciones para que el paciente pueda mantenerse libre de ella en forma permanente. Una vez realizado el diagnóstico y el pronóstico, se confecciona el plan de tratamiento con una visión de conjunto y no sólo en función de las piezas dentarias en forma individual. (Carranza, F. A. y Sznajder, N. G., 1996).

#### **3.1 Integración de la terapéutica anti-infecciosa con otras modalidades terapéuticas.**

La terapéutica anti-infecciosa consiste en procedimientos que neutralizan o controlan a los microorganismos que ocasionan la enfermedad. En muchas enfermedades sistémicas se hace hincapié en el uso de fármacos antimicrobianos; sin embargo, en las infecciones localizadas, como las enfermedades periodontales, la terapéutica anti-infecciosa a menudo consiste en una combinación de desbridamiento mecánico y de agentes antimicrobianos.

El **raspado** es un procedimiento necesario para retirar los depósitos duros y suaves de la superficie dental; el solo raspado es suficiente para quitar por completo los cálculos de la superficie del esmalte. El **alisado radicular** produce una superficie radicular biológicamente aceptable e incluye el retirar la flora microbiana, toxinas bacterianas, cálculos, dentina y cemento afectados, con instrumentación meticulosa manual o ultrasónica. El alisado radicular requiere eliminar el cemento y la dentina de la superficie radicular ya que el cálculo puede estar en grietas y fisuras de esta superficie; además, la superficie radicular de un diente con periodonto infectado puede actuar como depósito de bacterias periodontopáticas (Genko, R. J., et al., 1993).

Varios estudios han demostrado que los procedimientos de desbridación mecánica para quitar la mayor parte de la infección son efectivos en el tratamiento de la gingivitis y en casi todas las modalidades leves a moderadas de periodontitis del adulto (Badersten, A. et al., 1984a; Badersten, A. et al., 1984b y Ramfjord, S. P. y Nissle, R. R., 1977). Aunque para algunos pacientes con periodontitis leve a moderada la terapéutica anti-infecciosa resulta adecuada, la cirugía periodontal es a veces necesaria en los que presentan periodontitis avanzada y bolsas profundas para proporcionar un adecuado acceso y completar el desbridamiento radicular.

La terapia mecánica o instrumental (raspado y alisado radicular) por sí sola puede fallar en la eliminación total de bacterias patógenas por la localización de éstas dentro de los tejidos dentales y gingivales o en otras áreas inaccesibles para los instrumentos periodontales (azadones, limas, curetas, etc.). En resumen, junto con el tratamiento instrumental de la bolsa periodontal, se propone la utilización de estrategias destinadas a suprimir o eliminar periodontopatógenos específicos y a controlar su crecimiento en la superficie y alrededor del diente. Sin embargo, ninguno de los métodos sugeridos hasta hoy ha sido completamente aceptado.

La terapéutica antimicrobiana es importante para eliminar bacterias a las cuales no se puede llegar por medios instrumentales (bacterias en los tejidos o localizadas en zonas inaccesibles). La administración sistémica de antimicrobianos tiene una ventaja muy importante sobre la administración local de los mismos: la posibilidad de alcanzar microorganismos que han penetrado en los tejidos de toda el área dental. Por otro lado, para obtener una concentración efectiva del fármaco antimicrobiano en la bolsa periodontal después de la administración sistémica se requiere de varias tomas durante un lapso de tiempo prolongado (Joyston-Bechal, S., 1987 y Loesche W. J. et al., 1993). Algunos trabajos de investigación han demostrado que la administración sistémica de algunos antimicrobianos puede alcanzar concentraciones terapéuticas en el sitio de infección, sin embargo, estas concentraciones son mantenidas por un corto periodo después de una dosis única y la dosis empleada es capaz de producir efectos sistémicos indeseables (Gordon, J. M., et al., 1981a; Gordon, J. M., et al., 1981b; Walker, C. B., et al., 1981; Britt, M. R. y Pohlod, D. J., 1986; Van Oosten, M. A., et al., 1986 y Higashi, K., et al., 1989). Además cuando se emplean antibióticos de amplio espectro existe un alto riesgo de inducir resistencia bacteriana y se puede afectar la flora bacteriana normal (Fiehn, N. E. y Westergaard, J., 1990; Somayaji, B. V., et al., 1998 y Rams, T. E., et al., 1990).

Con la administración local de antimicrobianos para el tratamiento periodontal se pueden alcanzar, en el periodonto, concentraciones más elevadas que las alcanzadas por vía sistémica empleando dosis menores, lo

cual puede reducir la absorción sistémica y disminuir el riesgo de efectos adversos (Addy, M., et al., 1988). La principal desventaja de la administración local de antimicrobianos es la dificultad de penetrar a la bolsa periodontal y alcanzar la concentración adecuada del fármaco en el sitio de acción (Somayaji, B. V., et al., 1998). La elección de antibióticos en el tratamiento periodontal debe estar basada en la etiología bacteriana de la infección (Slots, J. y Rams, T. E., 1990).

Los microorganismos patógenos son susceptibles ante una gran variedad de antisépticos y antibióticos. Los métodos comúnmente empleados para administrar y/o transportar antimicrobianos dentro de la bolsa periodontal son: enjuagues, irrigación, administración sistémica y aplicación local usando dispositivos de liberación controlada y sostenida (Medlicott, N. J. et al., 1994; Greenstein, G. y Polson, A., 1998 y Drisko, C. H., 1996).

El éxito de los sistemas de liberación de fármacos diseñados para el tratamiento de las enfermedades periodontales depende de su habilidad para liberar los agentes antimicrobianos hacia la base de la bolsa periodontal alcanzando dentro de ella concentraciones bacteriostáticas o bactericidas. También debe facilitar la retención del medicamento en el sitio de acción el tiempo necesario para que se presente un efecto terapéutico (Medlicott, N. J. et al., 1994; Ganem-Quintanar, A., et al., 2000; Greenstein, G. y Polson, A., 1998 y Drisko, C. H., 1996). Las técnicas comúnmente usadas para administrar antimicrobianos que pretenden cumplir con lo anteriormente expuesto son comparadas en la tabla 5.

**Tabla 5.** Comparación de sistemas de liberación de fármacos para el tratamiento de la Periodontitis (Modificado de Greenstein, G. y Polson, A., 1998)

	<b>Enjuagues Bucales</b>	<b>Irrigación Subgingival</b>	<b>Sistemas de Liberación Sostenida</b>	<b>Sistemas de Liberación Controlada</b>
Alcance del sitio de acción	Pobre	Bueno	Bueno	Bueno
Concentración de fármaco adecuada	Bueno	Bueno	Regular	Bueno
Duración adecuada de la terapia	Pobre	Pobre	Regular	Bueno

Pitcher y colaboradores (1980) demostraron que un agente revelador de placa bacteriana administrado en un enjuague bucal no puede penetrar dentro de la bolsa periodontal, indicando que este método de liberación no es deseable para el tratamiento de infecciones subgingivales.

Diversos trabajos han propuesto la administración de soluciones antibacteriales directamente en las bolsas periodontales, empleando para ello jeringas manuales y/o dispositivos de irrigación especiales. La duración de la acción es generalmente corta cuando los antimicrobianos son administrados en solución y se requieren aplicaciones frecuentes para mantener una concentración efectiva en la bolsa periodontal. La necesidad de aplicaciones múltiples para obtener un beneficio clínico da lugar a que el paciente no esté conforme con este tipo de tratamiento.

Como consecuencia de las desventajas de los métodos de liberación de antimicrobianos señalados la atención se ha enfocado al desarrollo de sistemas de liberación prolongada dentro de la bolsa periodontal. Idealmente estos sistemas deben liberar el agente antibacteriano hacia las bolsas afectadas durante periodos de tiempo prolongados en una concentración superior a la concentración mínima inhibitoria de los microorganismos causantes (Medlicott, N. J. et al., 1994; Ganem-Quintanar, A., et al., 2000; Greenstein, G. y Polson, A., 1998 y Drisko, C. H., 1996).

Goodson y colaboradores (1979) fueron los primeros en idear un sistema capaz de liberar su activo dentro de la bolsa periodontal (intrapocket delivery system). Ellos sugirieron que un supositorio de liberación controlada, cargado con un fármaco, puesto dentro de la bolsa periodontal podría ser un método altamente efectivo para la administración de agentes antibacterianos en la terapia periodontal. Desde entonces han sido propuestos numerosos sistemas de aplicación tópica y de liberación sostenida con el objetivo de alcanzar una concentración antibacterial sostenida dentro de la bolsa periodontal y apoyar la terapéutica periodontal.

La selección de un sistema de liberación apropiado para el control de la placa y las infecciones orales debe considerar varias características de los agentes farmacológicos y del tipo de sistema de liberación. Estas características incluyen: toxicidad, potencia, permeabilidad, eficacia intrínseca, etc. (Goodson, J. M., 1989). Por ejemplo, la tetraciclina y otros antibióticos son menos tóxicos que los fluoruros aplicados localmente (Greenstein, G. y Polson, A., 1998); sin embargo las tetraciclinas presentan una desventaja: eliminan la flora bacteriana normal (Seymour, R. A. y Heasman, P. A., 1997). La potencia es importante para determinar la dosis del fármaco, frecuencia de dosificación, ruta de administración y formulación del

fármaco. La eficacia intrínseca se refiere a la habilidad de un agente antibacteriano de inhibir completamente el crecimiento bacteriano.

Los beneficios de usar un sistema de liberación controlada incluyen:

- Mayor comodidad del paciente
- Aumento o mantenimiento de la respuesta farmacocinética
- Mejor acceso y habilidad de posicionar el fármaco en el sitio dañado, y
- Capacidad de liberar el fármaco de forma controlada en dosis menores a la dosis total (Goodson, J. M., 1989 y Drisko, C. H., 1996).

A continuación se presentan algunos sistemas de aplicación local, supra y subgingival, y sistemas de liberación sostenida y controlada que han sido propuestos para diferentes antimicrobianos.

### **3.2 Sistemas de liberación sostenida de aplicación supragingival.**

Se han propuesto varios sistemas de liberación prolongada para aplicación supragingival de agentes para controlar la acumulación de la placa dental y la gingivitis. Estos sistemas se presentan en la tabla 6.

**Tabla 6.** Sistemas de liberación sostenida de aplicación supragingival.

<b>Sistema</b>	<b>Principio Activo</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Referencia</b>
Adhesivo	Antibiótico TA (Producido por <i>M. xanthus strain</i> )	Mejoría en gingivitis y control de placa.	Manor, A., et al., 1989
Barniz	Clorhexidina y Arginina	Control de placa	Shapira, J., et al., 1994
Capa de etilcelulosa	Clorhexidina	Control de placa	Brayer, L., et al., 1988
Película de copolímero del ácido metacrílico	Cloruro de cetilpiridinio	Control de placa	Kostovski, A., et al., 1994

### 3.3 Sistemas de liberación sostenida de aplicación subgingival.

Gran cantidad de agentes antimicrobianos (tetraciclina, metronidazol, clorhexidina, entre otros) han sido incorporados en diferentes tipos de sistemas de liberación sostenida y aplicación subgingival para el tratamiento de la periodontitis. Dentro de este tipo de sistemas podemos hablar de geles, ungüentos, parches, películas, etc. Las tablas 7 y 8 muestran algunos.

**Tabla 7.** Sistemas de liberación sostenida de aplicación subgingival (Geles y ungüentos).

Sistema	Principio Activo	Observaciones	Referencia
Gel, aplicado por irrigación	-Clorhexidina al 2% -Fluoruro estano al 4% -Fluoruro-amina al 1.25%	Reducción de la población de <i>Bacteroides ssp</i> con los dos primeros	Oosterwaal, P. J. et al., 1991
Gel	Clorhexidina al 1%	No hay reducción de la placa, el GI no cambió.	Kalaitzakis, C. J., et al., 1993
Gel	Metronidazol al 25%	Reducción significativa del PDI	Ainamo, J., et al., 1992
Ungüento	Clorhidrato de Minociclina	Reducción del PDI	Van Steenberghe, D., et al., 1993
Gel	Metronidazol al 25%	Reducción del PDI	Stelzel, M. y Flores de Jacobi, L., 1996
Gel	-Clorhexidina al 1% -Triclosán al 40%	Reducción del PDI con los dos sistemas	Unsal, E., et al., 1994
Ungüento	Triclosan 40%	Reducción del PDI y del SBI	Eckles, T. A., et al., 1990
Ungüento	Clorhidrato de Minociclina al 2%	Reducción del PDI y de <i>P. gingivalis</i>	Nakagawa, T., et al., 1991
Gel	Azul de metileno	Reducción de <i>Bacteroides ssp</i>	Gibson, M. T., et al., 1994

**Tabla 8.** Sistemas de liberación sostenida de aplicación subgingival (Películas, parches y chips).

Sistema	Principio Activo	Observaciones	Referencia
Parches de resina acrílica	-Clorhexidina -Metronidazol -Triclosán	Reducción del DPI con los tres sistemas, mayor con Metronidazol	Addy, M., et al., 1988
Parches acrílicos	-Metronidazol -Triclosán	Disminución de microorganismos patógenos	Wade, W. G., et al., 1992
Películas de etilcelulosa	Clorhexidina	Reducción del DPI	Stabholz, A., et al., 1986
Películas	Doxiciclina	Reducción del DPI	Taner, I. L., et al., 1994
Chip	Azul de Metileno	Reducción del DPI	Ower, P. C., et al., 1995
Chip	Ofloxacina	Reducción significativa del PDI y del SBI	Yamagami, H. et al., 1992
Película de colágeno	Triclosán	Reducción del DPI	Minabe, M., et al., 1988

### 3.4 Sistemas de liberación "intrapocket".

#### 3.4.1 *Sistemas tipo reservorio.*

El primer sistema de liberación tipo reservorio dentro de la bolsa periodontal fue un tubo de diálisis de acetato de celulosa con clorhidrato de tetraciclina sólido (diámetro = 250 µm). Este sistema se inscribió dentro de la bolsa periodontal aplicando una ligera presión (Goodson, J. M., 1979).

También han sido diseñados sistemas tipo reservorio en forma de fibras que contienen gluconato de clorhexidina (Coventry, J. y Newman, H. N., 1982) y metronidazol (Wan Yusof, W. et al., 1984).

### **3.4.2 Sistemas tipo matriz.**

En los sistemas tipo matriz el fármaco es distribuido completamente en una matriz de polímero y la liberación ocurre por difusión del fármaco y/o por disolución o erosión de la matriz polimérica.

Aquellos sistemas que liberan sólo por difusión son preparados usando polímeros insolubles en agua o polímeros biodegradables como matriz del sistema. Los sistemas que en la matriz tienen polímeros solubles en agua o polímeros biodegradables liberan su activo por difusión y por erosión o disolución de la matriz.

La mayor limitación de los sistemas no degradables es que deben ser removidos después de un periodo de tratamiento; ésto trae consigo una serie de problemas pues si no es retirado completamente y por una persona capacitada o especializada pueden permanecer en el paciente restos del sistema, presentándose reacciones inflamatorias en los tejidos adyacentes (Medlicott, N. J., et al., 1994). También, la remoción de este dispositivo es acompañada por una declinación rápida en la concentración antibacterial lo cual, a menudo, se relaciona con la recolonización de la bolsa periodontal (Tonetti, M., et al., 1990).

En contraste, los sistemas biodegradables (en la mayoría de los casos) no necesitan ser removidos y se erosionan o disuelven dentro de la bolsa periodontal sin necesidad de ser removidos; la liberación del activo y la degradación del polímero ocurre en intervalos de tiempo semejantes (Medlicott, N. J., et al., 1994). En las tablas 9 y 10 se presentan algunos ejemplos de estos sistemas.

Tabla 9. Sistemas de liberación tipo matriz (no degradables).

Matriz	Forma	Principio Activo	Referencia
Polietilmetacrilato (Orthoresin <sup>®</sup> )	Películas	-Clorhexidina -Metronidazol -Tetraciclina	Addy, M., et al., 1982
Polietilmetacrilato (Orthoresin <sup>®</sup> )	Parches	Metronidazol	Yeung, F. I., et al., 1983 y Addy, M. et al., 1988
Polietilmetacrilato (Orthoresin <sup>®</sup> )	Parches	-Clorhexidina -Metronidazol -Tetraciclina	Addy, M. y Langeroudi, M., 1984
Etilcelulosa	Películas	Clorhexidina	Friedman, M. y Golomb, G., 1982
Etilcelulosa	Películas	Diacetato de clorhexidina	Soskolne, A., et al., 1983
Etilcelulosa	Películas	Clorhexidina	Stabholz, A., et al., 1986
Etilcelulosa	Películas	Metronidazol	Golomb, G., et al., 1984
Etilcelulosa	Películas	Tetraciclina	Elkayam, R., et al., 1988
Etilcelulosa	Películas	Minociclina	Azoury, R., et al., 1988
Etilen vinil acetato	Fibras	Tetraciclina	Goodson, J. M., et al., 1983 Goodson, J. M., et al., 1985 Goodson, J. M., et al., 1991a Goodson, J. M., et al., 1991b Tonetti, M., et al., 1990 Heijl, L. et al., 1991
Etilmetacrilato (Eudragit RL <sup>®</sup> )	Películas	Clindamicina	Higashi, M., et al., 1991
Etilmetacrilato (Eudragit RL <sup>®</sup> )	Películas	Doxiciclina	Higashi, M., et al., 1991

Tabla 10. Sistemas de liberación tipo matriz (degradables).

Matriz	Forma	Principio Activo	Referencia
Hidroxipropilcelulosa	Películas	-Clorhexidina -Tetraciclina	Noguchi, T., et al., 1984
Materiales dentales "bioabsorbibles"	Gasas enrolladas	Doxiciclina	Larsen, T., 1990
<u>Telocollagen</u>	Películas Esponjas Parches	-Tetraciclina	Minabe, M., et al., 1989a; Minabe, M., et al., 1989b y Minabe, M., et al., 1989c
Proteína Byco <sup>®</sup>	Películas	-Clorhexidina -Tetraciclina	Steinberg, D., et al., 1990
Hidroxipropilcelulosa, copolímero S ácido metacrílico	Partículas de ácido metacrílico dispersadas en película de hidroxipropilcelulosa	Ofloxacina	Higashi, K., et al., 1990 y Kimura, S., et al., 1991
Poli-ε- caprolactona, Hidroxipropilcelulosa, Polietilenglicol	Fibras	Tetraciclina	Goodson, J. M., et al., 1983 y Dunn, R. L., et al., 1983
Ácido poliláctico y ácido polihidroxibutírico	Comprimidos	-Tetraciclina -Metronidazol	Collins, A. E., et al., 1989 Deasy, P. B., et al., 1989
Copolímeros de ácido láctico y poliláctico	Microcápsulas	Tetraciclina	Baker, R. W. et al., 1988
Poliláctico co-glicólico	Microcápsulas	Minociclina	Lawter 90
Poli-ε- caprolactona	Películas	Clorhexidina	Medlicott, N. J., et al., 1992

Tabla 10 (continuación). Sistemas de liberación tipo matriz (degradables).

Matriz	Forma	Principio Activo	Referencia
Monooleato de glicerilo, aceite de sésamo	Gel	Metronidazol	Norling, T., et al., 1992; Stolze, K. y Stellfeld, M 1992; Stolze, K., 1992; Klinge, B., et al., 1992; Pedrazzoli, V., et al., 1992 y Ainamo, J., et al., 1992
Copolímeros de ácido metacrílico y metilmetacrilato (Eudragit L <sup>®</sup> y Eudragit S <sup>®</sup> )	Películas	Clindamicina	Higashi, M., et al., 1991

### 3.5 Sistemas de aplicación local disponibles comercialmente.

En Estados Unidos y otros países se comercializan diversos sistemas, que proveen de manera local medicamentos a fin de tratar los padecimientos periodontales. En la tabla 11 se incluyen los dispositivos empleados para suministrar fármacos que se comercializan actualmente.

Actisite<sup>®</sup> son pequeñas fibras impregnadas de tetraciclina, deben ser colocadas dentro de la bolsa periodontal, su colocación es meticulosa y algunas veces las fibras se salen de la bolsa periodontal; deben reemplazarse cada 7 días, proveen una emisión controlada de tetraciclina y no son resorbibles. Los otros cuatro productos citados son resorbibles.

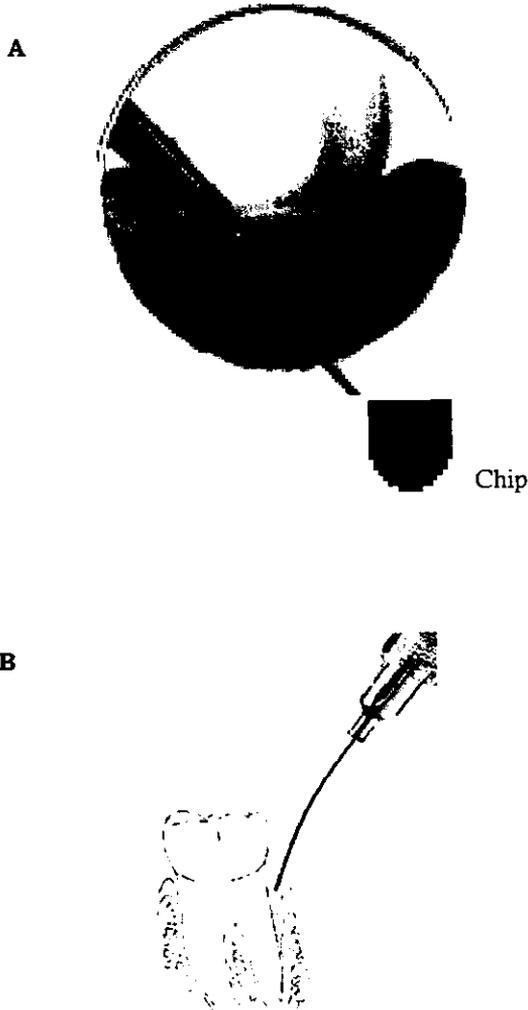
Elyzol<sup>®</sup> Dental Gel, que se comercializa en Estados Unidos y Europa, y Dentomycin<sup>®</sup> Dental Gel, disponible en Inglaterra, ofrecen emanación sostenida y se resorben en 24 horas.

Atridox® es un gel que contiene doxiciclina, este gel es inyectado dentro de la bolsa periodontal, provee una liberación controlada del activo durante aproximadamente 7 días y es resorbible.

PerioChip® es una película delgada de forma rectangular con uno de los extremos cóncavos, sus dimensiones son: 4 mm X 5 mm X 350 µm, tiene un peso de 7.4 mg. El chip contiene 2.5 mg de gluconato de clorhexidina (como base) incorporada en una matriz biodegradable de gelatina. PerioChip® se biodegrada completamente en la bolsa periodontal aproximadamente en 7 días. En figura 9 se muestra un esquema que indica la forma en que se inserta PerioChip® que actualmente se distribuye por Astra® USA, Inc., Westborough y la manera en que se aplica el gel Atridox®.

**Tabla 11.** Comparación de sistemas para suministrar fármacos para el tratamiento periodontal disponibles comercialmente.

<b>Dispositivo</b>	<b>Facilidad de aplicación</b>	<b>Tiempo necesario para su aplicación</b>	<b>Estudio más largo realizado</b>	<b>Referencia</b>
Fibra de Tetraciclina (Actisite®, Alza Corp., Palo Alto, CA.)	Moderada	5min	12 meses	Drisko, C., et al., 1995
Gel dental de Metronidazol (Elyzol® Dental Gel, Dumex Copenhagen, Dinamarca)	Simple	<1 min	24 meses	Stelzel, M. y Flores de Jacobi, L., 1997
Chip de Clorhexidina (PerioChip®, Perio Products, Jerusalem, Israel)	Simple	<1 min	9 meses	Soskolne, W. A., et al, 1997
Gel dental de minociclina (Dentomicin® Dental Gel, Cyanamid International, Wayne, NJ)	Simple	<1 min	18 meses	Timmermans, M. F., et al., 1996
Gel de doxiciclina (Atridox®, Atrix Laboratories, Fort Collins, CO)	Simple	<1 min	9 meses	Garret, S., et al., 1997

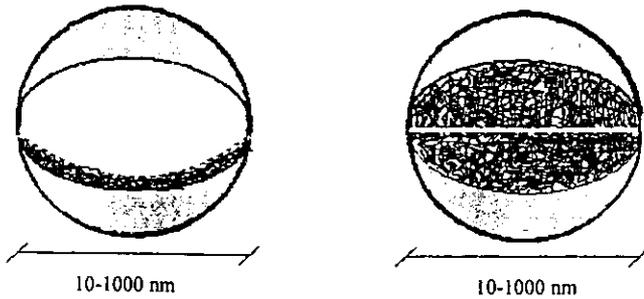


**FIGURA No. 9.** Esquema que simula la colocación de PerioChip<sup>®</sup> dentro de la bolsa periodontal (A) y la aplicación de Atridox<sup>®</sup>.

### 3. NANOPARTÍCULAS (GENERALIDADES)

Durante las últimas décadas los acarreadores coloidales poliméricos han constituido una alternativa para la fabricación de formas farmacéuticas capaces de liberar su activo en sitios específicos del cuerpo. Especial interés han despertado las nanopartículas pues poseen una mayor posibilidad de escalamiento con respecto a los otros sistemas.

Las nanopartículas son sistemas sólidos coloidales de talla submicrónica (10-1000 nm). El término nanopartícula es usado como el nombre colectivo para describir tanto a las nanoesferas como a las nanocápsulas. La diferencia entre éstas dos formas está ligada a la morfología y a la arquitectura de la entidad. Las nanoesferas están formadas por una densa matriz polimérica donde el principio activo puede ser dispersado y/o adsorbido en la superficie de la partícula; mientras que las nanocápsulas están compuestas de un núcleo aceitoso envuelto por una membrana polimérica, de tal manera que los activos pueden ser disueltos en un aceite constituyendo el corazón lipofílico de la nanocápsula o bien, el mismo aceite puede ser la sustancia con actividad (Quintanar, G. D., et al, 1998a y Kreuter, J., 1994). En la figura 10 puede apreciarse la representación esquemática de una nanoesfera y una nanocápsula.



**FIGURA 10.** Representación esquemática de la estructura de nanopartículas. A) Nanocápsula y b) Nanoesfera. (Tomado de Quintanar, G. D., et al. 1998a).

En general, las nanopartículas pueden ser preparadas por polimerización de monómeros dispersos y por dispersión de polímeros preformados (pseudolátex) o de macromoléculas naturales como la albúmina (Couvreur, P., et al., 1995).

La preparación de nanopartículas a partir de la polimerización de monómeros presenta diversos inconvenientes pues los productos de la reacción pueden ser no compatibles entre sí o con el activo o incluso provocar irritación, además de dejar residuos más o menos tóxicos tales como monómeros, oligómeros, catalizadores e iniciadores. Además son probables las reacciones cruzadas con el activo o la degradación de los componentes cuando se recurre a la radiación para inducir la polimerización (Couvreur, P., et al. 1995 y Fessi, H. et al., 1989). Se han realizado numerosas investigaciones con nanopartículas de polialquilmacrilatos que demuestran los efectos tóxicos de sustancias residuales presentes después de una reacción de polimerización (Alléman, E., et al., 1993). Por lo anterior, se prefiere emplear las técnicas que utilizan polímeros preformados, en particular si éstos son biodegradables. La atención se ha enfocado principalmente a los poliésteres tales como ácido poliláctico, poliláctico co-glicólico, poliglicólico y poli- $\epsilon$ -caprolactona, los cuales han presentado buena histocompatibilidad, biodegradabilidad y subproductos no tóxicos (Aftabrouhad, C. y Doelker, E., 1992 y Schade, A., et al., 1995). Además, la seguridad de estos polímeros ha sido extensamente documentada durante las últimas tres décadas y varios sistemas de liberación han sido probados y comercializados.

Los métodos de preparación de nanopartículas a partir de polímeros preformados pueden ser clasificados en cuatro categorías: 1) Emulsificación-Evaporación, 2) Salting-out, 3) Desplazamiento de Solvente y 4) Emulsificación-Difusión (Quintanar, G. D., 1998b). Estas técnicas son similares, pues involucran una solución orgánica que contiene los componentes de la nanopartícula, la cual funciona como fase interna durante la preparación, y una solución acuosa que contiene los estabilizantes, la cual constituye el medio de dispersión. Otra similitud entre las técnicas es la pobre encapsulación de activos moderada y libremente solubles al agua. Es importante mencionar que aunque todos estos métodos permiten la preparación de nanoesferas, sólo el método de desplazamiento de solvente (Fessi, H., et al., 1989) y el método de emulsificación-difusión (Quintanar, G. D., et al., 1997a) permiten la preparación de nanocápsulas.

El método de preparación de nanopartículas que se empleó en el presente trabajo fue el método de emulsificación-difusión, recientemente patentado por Quintanar y colaboradores (1997a). Este método, esquematizado en la figura 11 puede ser considerado una modificación del

proceso de salting-out, pero suprimiendo el uso de sales. Involucra el uso de solventes parcialmente miscibles al agua, los cuales son previamente saturados con agua, con la finalidad de garantizar un equilibrio termodinámico inicial de ambos líquidos. El polímero es disuelto en el solvente saturado con agua y esta solución orgánica es emulsificada con agitación vigorosa, en una solución acuosa que contiene un estabilizante. La subsecuente adición de agua al sistema provoca la difusión del solvente hacia la fase externa, lo cual trae como resultado la formación de las nanopartículas. El exceso de solvente, en este caso acetato de etilo, es eliminado por destilación; la forma de eliminación del solvente depende de su punto de ebullición y puede llevarse a cabo por filtración tangencial, o bien, por destilación tal como se desarrolló en este trabajo (Quintanar, G. D., et al, 1997b).

# Método de emulsificación- difusión

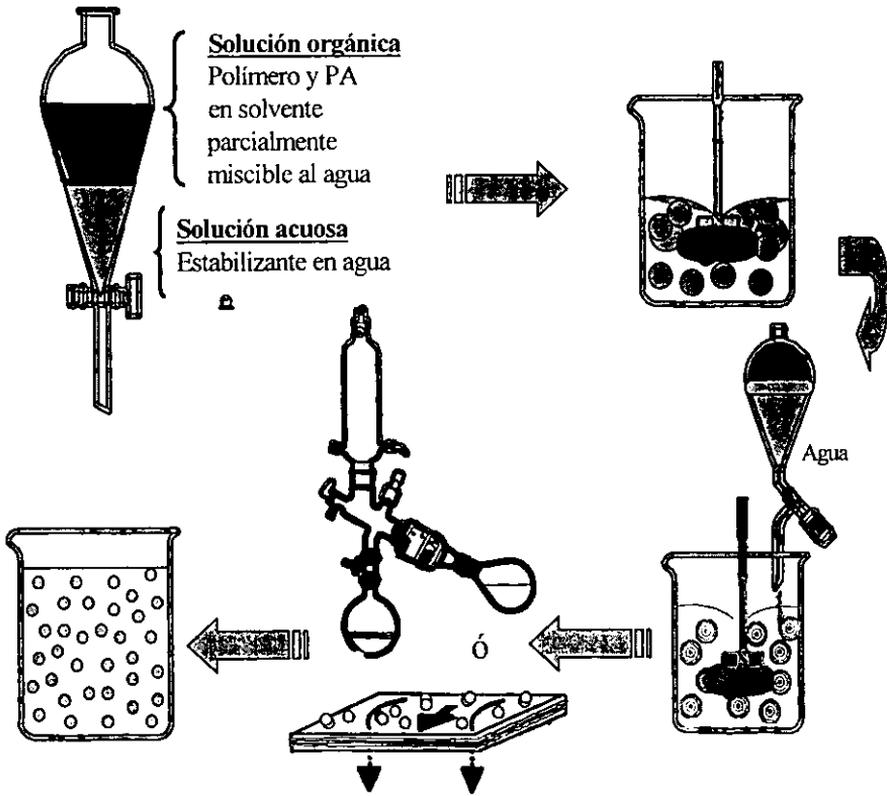


FIGURA 11. Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por la técnica de emulsificación-difusión (Tomado de Quintanar, G. D., et al. 1998b).

### **III. OBJETIVOS.**

#### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

- ❖ Preparar un sistema nanoparticulado (nanoesferas) para su aplicación como acarreador de un principio activo utilizado en el tratamiento de la gingivitis/periodontitis.

#### **1.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- ❖ Preparar nanoparticulas mediante la técnica de emulsificación-difusión empleando diferentes polímeros.
- ❖ Encapsular un principio activo destinado al tratamiento de la gingivitis/periodontitis
- ❖ Determinar la eficacia del proceso, la tasa de encapsulación y la morfología de las nanoparticulas preparadas con diferentes proporciones del polímero.
- ❖ Incorporar las nanoparticulas en un sistema de gel susceptible de ser aplicado fácilmente y retenido durante un lapso de tiempo conveniente en la bolsa gingivo-dental.

## **IV. PARTE EXPERIMENTAL.**

### **1. MATERIALES Y REACTIVOS.**

- Resomer®RG502, Pol(D,L-lactic-coglicolico (Boehringer Ingelheim)
- Eudragit®E100 grado USP (Helm)
- Eudragit®RS100 grado USP (Helm)
- Pluronic®F-127 (Polioles)
- Mowiol®4-88, Poli(vinilalcohol) (Hoechst)
- Epikuron®200, fosfatidilcolina lecitina (Lucas Meyer)
- Triclosán, pureza del 99.86% (Multiquim)
- Brij®58, Polioxietilen(20)cetiléter (ICI Specialty Chemicals)
- Tween®80, Polysorbate 80,NP. Polioxietilen(20)sorbitanmonooleato (ICI Surfactants)
- Acetato de etilo grado espectrofotométrico (Mallinckrodt)
- Miristato de isopropilo, grado reactivo
- Palmitato de isopropilo, grado reactivo
- Hidróxido de sodio en hojuelas, grado reactivo
- Ácido clorhídrico, grado reactivo
- Yodo resublimado, grado reactivo
- Yoduro de Potasio, grado reactivo
- Ácido bórico, grado reactivo
- Agua destilada

### **2. INSTRUMENTOS Y EQUIPO.**

- Homogeinizador Turrax®
- Rotavapor Büchi® R110
- Liofilizadora de mesa Labconco®
- Ultracentrifuga R-5 (Dupont Instruments Sorvall)
- Ultrasonicador Branson® 3200
- Nanosizer Coulter N4 SD, (Beckman Instruments)
- Filtros Millex-GV®0.22 µm (Millipore)
- Microscopio electrónico de barrido JSM-25 S II (JEOL)
- Campana para recubrimiento con oro JFC-1100 (JEOL)
- Material de cristalcría

### 3. METODOLOGÍA.

En el siguiente esquema se muestra el plan de trabajo general:

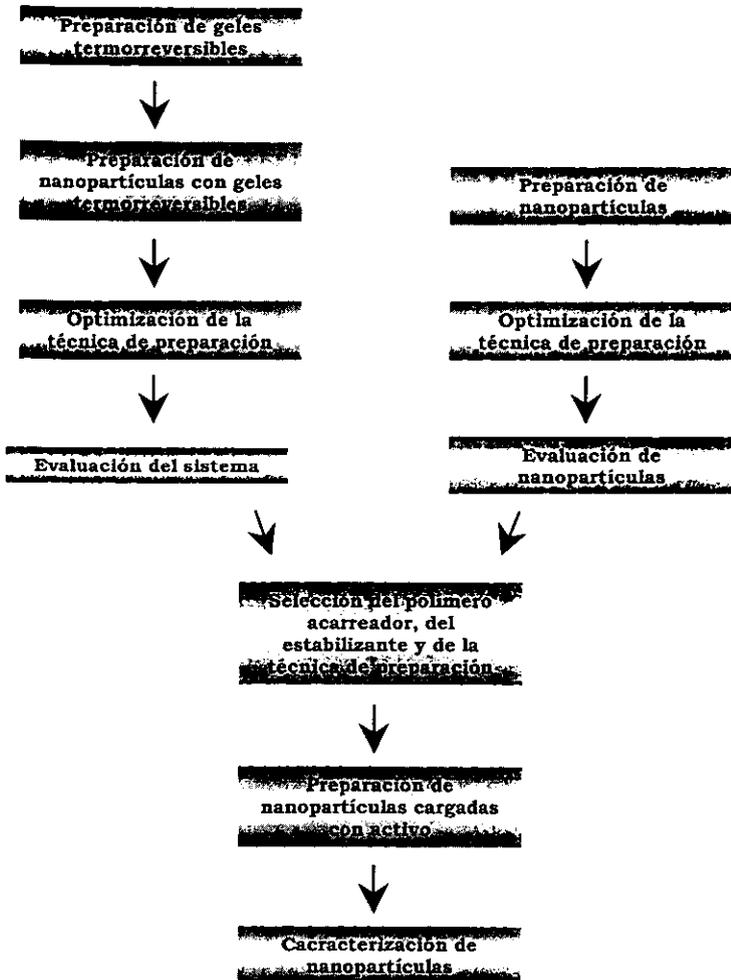


FIGURA 12. Diagrama del plan general de trabajo.

### **3.1 Preparación de geles termorreversibles de Pluronic® F-127.**

Preparar los geles a las siguientes concentraciones peso/peso: 20, 25 y 30%, disolviendo el polímero en agua destilada a una temperatura de 90°C con agitación magnética vigorosa.

### **3.2 Preparación de geles termorreversibles de Epikuron®200.**

Preparar 1.5 de una solución de fosfatidilcolina en miristato de isopropilo o en palmitato de isopropilo de concentración 0.05M; adicionar 1 µl de agua destilada, agitar, repetir esta operación hasta que se forme el gel.

### **3.3 Preparación de nanopartículas con fosfatidilcolina (Epikuron®200).**

Disolver 400 mg de polímero y la fosfatidilcolina en 20 ml de acetato de etilo, previamente saturado con agua destilada, emulsionar con 40 ml de agua destilada, previamente saturada con acetato de etilo. Agitar a 1500 rpm durante 10 minutos con el Ultraturrax®. Agregar 160 ml de agua destilada. Evaporar el exceso de solvente con el rotavapor. Congelar en baño de acetona-hielo seco, liofilizar y resuspender en agua para determinar la talla con el Nanosizer®.

Resuspender las nanopartículas liofilizadas en miristato de isopropilo y en palmitato de isopropilo y agregar 1 µl de agua destilada, agitar, repetir esta operación hasta que se forme el gel. Usar primero 250 mg de fosfatidilcolina y después 500 mg. Determinar la talla.

### **3.4 Preparación de nanopartículas con Pluronic® F127.**

Disolver 400 mg de polímero en 20 ml de acetato de etilo, previamente saturado con agua destilada, emulsionar con 40 ml de una solución acuosa de Pluronic® F 127 al 5%, el agua destilada fue previamente saturada con acetato de etilo. Agitar a 1500 rpm durante 10 minutos con el Ultraturrax®. Agregar 160 ml de agua destilada. Evaporar el exceso de solvente con el

rotavapor. Congelar en baño de acetona-hielo seco, liofilizar y resuspender en agua para determinar la talla con el Nanosizer<sup>®</sup>.

### **3.5 Preparación de geles termorreversibles con nanopartículas estabilizadas con Epikuron<sup>®</sup>200.**

Pesar aproximadamente 0.15 g de nanopartículas con fosfatidilcolina y resuspender en 5 ml de miristato de isopropilo y en palmitato de isopropilo; adicionar 1 µl de agua destilada y agitar. Repetir esta operación hasta que se forme el gel.

### **3.6 Preparación de geles termorreversibles con nanopartículas estabilizadas con Pluronic<sup>®</sup> F-127.**

Resuspender aproximadamente 1 g de las nanopartículas obtenidas con Pluronic<sup>®</sup> F-127 en 5 ml de agua destilada con agitación vigorosa.

### **3.7 Preparación de nanopartículas con Polivinilalcohol.**

Disolver 400 mg de polímero en 20 ml de acetato de etilo, previamente saturado con agua destilada, emulsionar con 40 ml de una solución acuosa de Polivinilalcohol al 5%, el agua destilada fue previamente saturada con acetato de etilo. Agitar a 1500 rpm durante 10 minutos con el Ultraturrax<sup>®</sup>.

Agregar 160 ml de agua destilada. Evaporar el exceso de solvente con el rotavapor. Centrifugar dos veces a 15000 rpm durante 1 hora y resuspender en agua. Determinar la talla con el Nanosizer<sup>®</sup> y la morfología por microscopía electrónica de barrido.

### **3.8 Preparación de nanopartículas con ácido poliláctico co-glicólico polivinilalcohol cargadas con triclosán.**

Disolver 400 mg de polímero y el triclosán en 20 ml de acetato de etilo, previamente saturado con agua destilada, emulsionar con 40 ml de una solución acuosa de Polivinilalcohol al 5%, el agua destilada fue previamente saturada con acetato de etilo. Agitar a 1500 rpm durante 10 minutos con el Ultraturrax®.

Agregar 160 ml de agua destilada. Evaporar el exceso de solvente con el rotavapor. Centrifugar dos veces a 15000 rpm durante 1 hora y resuspender en agua. Determinar la talla con el Nanosizer® y la morfología por microscopía electrónica de barrido.

Las cantidades de triclosán a utilizar son 40, 80, 120 y 200 mg de triclosán.

### **3.9 Determinación del polivinilalcohol residual en nanopartículas de ácido poliláctico co-glicólico cargadas con triclosán.**

Dejar secar una muestra de nanopartículas en un desecador, hasta alcanzar peso constante. Digerir una cantidad exactamente conocida de nanopartículas secas con 10 ml de hidróxido de sodio 0.1N, dejar en agitación por 48 horas continuas. Neutralizar con HCl y filtrar la suspensión cuidadosamente con filtro Millipore de 22 µm.

Tomar 0.5 ml de filtrado y ajustar el volumen a 10ml. Se mezclan 3 ml de esta solución con 2 ml de agua destilada, 2 ml de ácido bórico 0.65 M ( $H_3BO_3$  0.65 M) y 1 ml de yodo 0.65 M/yoduro de potasio 0.15 M ( $I_2/KI$ ). El complejo colorido y estable por 15 minutos se lee espectrofotométricamente a 640 nm.

Al mismo tiempo se corre un estándar bajo las mismas condiciones y se emplea como blanco el siguiente sistema: 5 ml de  $H_2O$ , 2 ml de  $H_3BO_3$  y 1 ml de  $I_2/KI$ .

**3.10 Determinación de triclosán en las nanopartículas de ácido poliláctico co-glicólico.**

Dejar secar una muestra de nanopartículas en un desecador, hasta alcanzar peso constante. Digerir una cantidad exactamente conocida de nanopartículas secas con 10 ml de hidróxido de sodio 0.1N, dejar en agitación por 48 horas continuas. Neutralizar con HCl y filtrar la suspensión cuidadosamente con filtro Millipore de 22  $\mu\text{m}$ .

Tomar un volumen conocido de filtrado y ajustar a 10ml. Agitar y leer espectrofotométricamente a 290 nm, comparando con un estándar de triclosán.

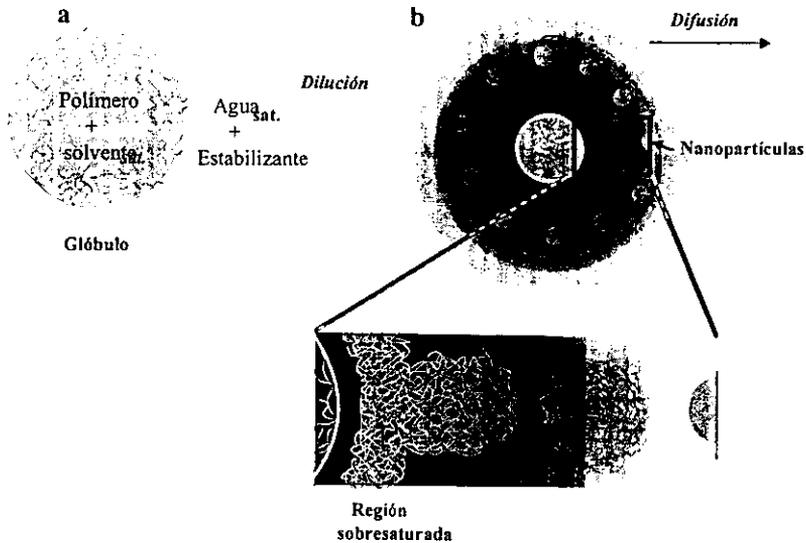
## **V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el desarrollo de este proyecto se prepararon diversos lotes de nanopartículas (nanoesferas) empleando polímeros biodegradables (ácido poliláctico co-glicólico) y polímeros no biodegradables ( Eudragit E-100 y Eudragit RS-100) siguiendo el método de emulsificación-difusión, mismo que se esquematizó en la figura 11.

El mecanismo de formación de nanopartículas por este método (emulsificación-difusión) ha sido revisado bajo diferentes condiciones por Quintanar-Guerrero y colaboradores (1997c). Se ha encontrado que cada glóbulo de la emulsión formada puede producir varias partículas y que estas son formadas por un fenómeno interfacial durante la difusión de solvente. Sin embargo, este fenómeno no puede ser enteramente explicado por los efectos de convección causados durante la turbulencia interfacial. Por lo tanto, se sugiere que las nanopartículas son formadas debido a inestabilidad química producida por el transporte de solvente, por un mecanismo similar al usado para explicar los procesos de emulsificación espontánea (mecanismo de difusión-“stranding”). La idea básica es que la difusión de solvente desde los glóbulos acarrea moléculas hacia la fase acuosa, formando regiones locales de supersaturación en las cuales, son formados nuevos glóbulos o agregados de polímero. La estabilización de estas “proto-nanopartículas” por la presencia de un agente estabilizante es muy importante para prevenir la coalescencia y la formación de aglomerados. De esta manera, si los restos de estabilizante en la interfase líquido-líquido, durante el proceso de difusión, y su efecto protector son adecuados, entonces se formarán las nanopartículas (NP) después de la completa difusión del solvente (figura 12).

Empleando esta técnica se han preparado NP biodegradables utilizando solventes como alcohol bencílico, propilencarbonato y acetato de etilo. En lo que referente a el estabilizante, su selección dependerá de su habilidad para formar emulsiones estables para asegurar la formación de las NP. Por ejemplo, se ha reportado que NP de ácido poli-láctico se pueden preparar usando polivinilalcohol o poloxamero 188 como estabilizantes y propilencarbonato como solvente. En cambio, cuando se usa polisorbato 80 o dextrán se forman agregados, esto sugiere que estos estabilizantes no forman emulsiones estables y no previenen la coalescencia del glóbulo durante la fusión (Quintanar, G. D., et al., 1998c).

## Mecanismo de formación de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión



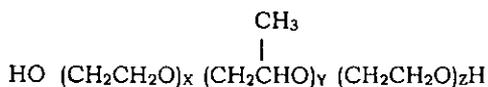
**FIGURA 12.** Representación esquemática de el mecanismo propuesto para la formación de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión. (a) antes del paso de difusión, (b) durante el paso de difusión.

Las principales desventajas del uso de la técnica de emulsificación-difusión son: a) la eliminación de grandes volúmenes de agua de la suspensión de nanopartículas y b) la probable migración del activo hacia la fase acuosa durante la emulsificación. Al igual que las otras técnicas de formación de NP, la de emulsificación-difusión es eficiente para el encapsulamiento de activos liofilicos.

En este trabajo de tesis los primeros lotes de nanopartículas se prepararon utilizando como polímeros Eudragit® E-100, Eudragit® RS-100 y ácido poliláctico co-glicólico. Como estabilizantes se utilizaron soluciones de Pluronic® F-127 (Poloxamero F-127) y fosfatidilcolina. De esta forma se pretendía formar un gel termorreversible al mismo tiempo que se formaban las nanopartículas.

Las secuencias poliméricas a base de óxido de etileno y de propileno (poloxameros y poloxaminas) poseen una peculiar característica fisicoquímica: la propiedad de formar geles termorreversibles (Koller, C. y Buri, P., 1987). Esta transición del estado líquido a la forma de gel se presenta a temperaturas cercanas a la temperatura corporal, lo cual conlleva a la posibilidad de darles interesantes aplicaciones farmacéuticas, médicas y cosméticas.

Los poloxameros están formados por un núcleo central hidrófobo (cadena de polioxipropileno), rodeado por secuencias hidrofílicas de óxido de etileno, su estructura general se representa en la siguiente figura.



**FIGURA 13.** Representación de la estructura de los poloxameros. Y es igual o superior a 15, por lo que X+Z son estadísticamente iguales.

El Pluronic® F127 es un compuesto sólido formado en un 70% de óxido de etileno. La alta solubilidad de éste y los otros poloxameros en agua fría se atribuye a la formación de enlaces puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua y los átomos de oxígeno de las funciones éter. Un aumento en la temperatura provoca una ruptura de estas uniones y por tanto una menor hidratación del polímero y una disminución en su solubilidad. Además se ha observado que la solubilidad de los poloxameros aumenta en medio ácido, debido a la formación de iones oxonio (Koller, C. y Buri, P., 1987).

Los geles termorreversibles de Pluronic® F127 se prepararon a tres diferentes concentraciones: 20, 25 y 30% por la técnica en caliente propuesta por Miller y colaboradores (1984), la gelificación se produce por la disminución de la temperatura de la solución que inicialmente estaba a 90°C. Los geles obtenidos fueron transparentes, incoloros y de fácil aplicación.

También se planteó la preparación de geles termorreversibles de fosfatidilcolina que fungieran como acarreadores de las nanoparticulas. Estos organogeles son fácilmente obtenidos por adición de cantidades infinitesimales de agua a una solución de fosfatidilcolina en solventes orgánicos. Algunos líquidos biocompatibles tales como el palmitato y el miristato de isopropilo y otros ésteres de este tipo pueden ser usados para formar geles que pueden utilizarse en formulaciones farmacéuticas y cosméticas. Los geles de lecitina

son isotrópicos y termorreversibles, a temperaturas mayores a 40°C se comportan como líquidos con una baja viscosidad y por enfriamiento y agitación se comportan como geles con alta viscosidad (Scartazzini, R. y Luigi, P., 1988 y Willimann, H., et al., 1992).

En este trabajo se logró la preparación de dos geles con fosfatidilcolina y agua, uno con miristato de isopropilo y el otro con palmitato de isopropilo. La fosfatidilcolina se trabajó en concentración 0.05M en el solvente orgánico y para formar el gel se requirieron 6  $\mu$ l de agua para el miristato de isopropilo y 4  $\mu$ l de agua para palmitato de isopropilo. Desafortunadamente, estos geles se rompen muy fácilmente al sobrepasar con tan sólo 1 $\mu$ l la cantidad de agua requerida para su formación.

Una vez obtenidos los geles termorreversibles se procedió a preparar lotes de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión empleando la fosfatidilcolina y el Pluronic<sup>®</sup> F127 como agentes estabilizantes.

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos para los lotes de nanopartículas con fosfatidilcolina (Epikuron<sup>®</sup>) y tres diferentes polímeros: Eudragit<sup>®</sup> E-100, Eudragit<sup>®</sup> RS-100 y ácido poliláctico co-glicólico (Resomer<sup>®</sup> RG502). La tabla contiene únicamente los resultados de los lotes que contenían 250 mg de fosfatidilcolina, 400 mg de polímero y 20 ml de acetato de etilo; se intentó la preparación de nanopartículas con 500 mg de fosfatidilcolina puesto que no se lograba estabilizar la emulsión. La función de la fosfatidilcolina en estos lotes era estabilizar la emulsión que se forma durante el proceso de formación de las nanopartículas; esto se consiguió cuando se trabajó con 250 mg de fosfatidilcolina pero con 500 mg no se logró formar la emulsión.

Puede apreciarse que independientemente del polímero con el que se trabaje el agente estabilizante (fosfatidilcolina) no es capaz de prevenir la agregación de las "proto-nanopartículas", a pesar de que al inicio del proceso para los lotes de 250 mg de fosfatidilcolina la emulsión era estable. Por esta razón la talla de las partículas obtenidas, en general, es mayor a 1  $\mu$ m, puesto que se forman agregados de "proto-nanopartículas".

Como se señaló anteriormente el aumentar la concentración de la fosfatidilcolina, lejos de lograr una mejor estabilización de los glóbulos de la emulsión favoreció el rompimiento de la misma. Este hecho puede ser ocasionado por la formación de micelas de fosfatidilcolina, pues al sobrepasar la concentración micelar crítica, la fosfatidilcolina se agrupa para formar micelas y se aleja de la interfase, dejando desprotegidos a los glóbulos y ocasionando una separación de fases.

Se intentó resuspender las micropartículas obtenidas en los lotes con 250 mg de fosfatidilcolina, después de liofilizarlas, en miristato de isopropilo y en palmitato de isopropilo; éstas no se resuspenden aún después de 25 minutos de sonicación.

**Tabla 12.** Nanopartículas con fosfatidilcolina como estabilizante. (Utilizando 250 mg de fosfatidilcolina Epikuron® 200 por lote).

<b>Polimero</b>	<b>No. Lote</b>	<b>Talla promedio (nm)</b>	<b>Límites 95%</b>
<b>Resomer® RG502</b>	1	6518	5504-7511
	2	6622	5783-7613
<b>Eudragit® E100</b>	1	1116	1093-1128
	2	1084	1063-1103
<b>Eudragit® RS100</b>	1	1023	1004-1050
	2	997	980-1021

En lo que respecta a los lotes preparados con Pluronic® F127 se obtuvieron resultados interesantes; se observó una clara diferencia en la talla de las partículas antes y después de liofilizarlas, así como diferencia en la talla al ser sometidas a un proceso de congelación/descongelación en un baño de acetona. Los resultados se presentan en la tabla 13.

Puede observarse, primeramente, que las partículas obtenidas con el poliláctico co-glicólico (Resomer® RG502) poseen una talla mayor a 1 µm y las partículas de Eudragit® RS 100 presentan talla nanométrica. Los resultados muestran que existe una clara diferencia entre la talla de las partículas liofilizadas y la de las no liofilizadas.

**Tabla 13.** Nanopartículas con Pluronic®F127 como estabilizante, antes (s/liof) y después de liofilizar (c/liof).

<b>Polímero</b>	<b>No. Lote</b>	<b>Talla promedio (nm)</b>	<b>Límites 95%</b>
<b>Resomer® RG502</b>	1 s/liof	2940	2850-3030
	1 c/liof	5833	5714-5979
	2 s/liof 2 c/liof	2800 5747	2745-2852 5642-5883
	3 s/liof 3 c/liof	2070 3990	2020-2120 3910-4070
	<b>Eudragit® RS100</b>	1 s/liof 1 c/liof	596 988
2 s/liof 2 c/liof		519 992	507-530 973-1006

Como se indicó con anterioridad, en el proceso de emulsificación-difusión empleado, cada glóbulo de la emulsión formada puede producir varias partículas; la estabilización de estas "proto-nanopartículas" por un agente estabilizante es primordial para prevenir la coalescencia y la formación de aglomerados (Quintanar, G. D., et al., 1997c). Es notorio que el estabilizante usado (Pluronic® F127) no fue capaz de prevenir la formación de aglomerados, por su propia naturaleza o por la concentración empleada. Después de la eliminación del acetato de etilo, la estabilidad de la suspensión de las nanopartículas depende únicamente de la fuerza de interacción entre la superficie de la partícula y el agente estabilizante (Pluronic® F127) (Quintanar, G. D., et al., 1998c).

En trabajos recientes Quintanar, G. D. y colaboradores (1996 y 1997b) han demostrado que los estabilizantes con bloques de polioxipropileno (poloxamers) tienen poca afinidad a las interfases entre el ácido poliláctico y el agua, lo que ocasiona que nanopartículas formadas por el método de emulsificación-difusión se agreguen durante la liofilización o la filtración tangencial. Dicha investigación fue realizada específicamente con nanopartículas de ácido poli-(D,L-láctico) y dos estabilizantes: Pluronic®188 y polivinilalcohol.

Considerando lo anterior y recordando que el Pluronic<sup>®</sup>188 presenta una estructura muy semejante al Pluronic<sup>®</sup> F127; podemos afirmar que el empleo de este agente estabilizante no permite la preparación de partículas de talla nanométrica por el método de emulsificación difusión, puesto que no es capaz de evitar la formación de agregados.

Para comprender la diferencia de talla de los lotes liofilizados y los no liofilizados es necesario recordar que la solubilidad de los poloxameros es mayor en agua fría que en agua caliente (Miller, S. C., y Drabik B. R., 1984) y durante la liofilización se manejan temperaturas muy bajas. Al disminuir la temperatura se favorece la formación de puentes de hidrógeno entre el agua y los grupos éter del poloxamer, esto trae como consecuencia una mayor solvatación del Pluronic<sup>®</sup> F127; las cadenas de polioxipropileno y polioxietileno se hidratan y se separan de la superficie de las partículas y migran hacia la fase continua. Se ha demostrado que las moléculas de Pluronic<sup>®</sup> 188 pueden solvatars individualmente o formar micelas (Armstrong, J. H., et al., 1994), es probable que lo mismo suceda con el Pluronic<sup>®</sup> F127.

Una vez analizados los resultados de los lotes de Pluronic<sup>®</sup> F127 y Epikuron<sup>®</sup> 200, se optó por utilizar como estabilizante una solución de Polivinilalcohol al 5%. Los resultados se muestran en la tabla 14.

**Tabla 14.** Nanopartículas con polivinilalcohol como estabilizante.

Polímero	No. Lote	Talla promedio (nm)	Límites 95%
Resomer <sup>®</sup> RG502	1	309	305-312
	2	291	288-295
Eudragit <sup>®</sup> RS100	1	365	363-367
	2	355	350-359

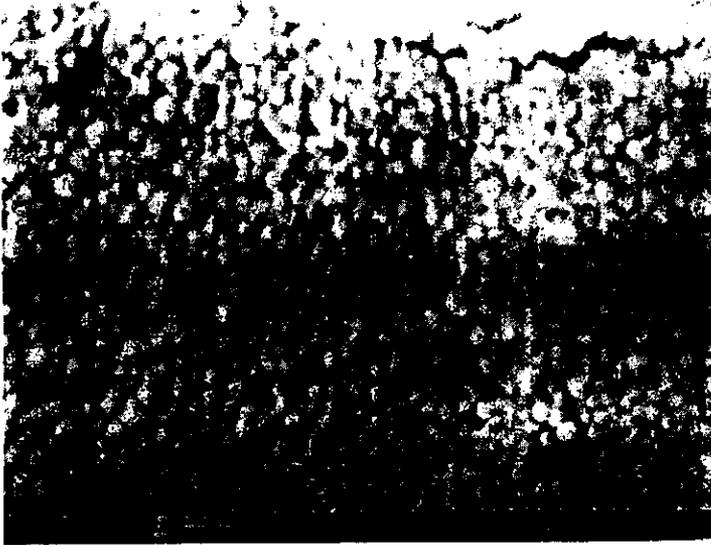
En la tabla 14 puede observarse que al utilizar como estabilizante polivinilalcohol se obtuvieron partículas de talla nanométrica cercana a los 300 nm para los dos polímeros empleados. Todos los lotes preparados fueron estables en suspensión y no se detectó agregación aún después de 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente. Como se mencionó anteriormente

la estabilidad de la suspensión de las nanopartículas, una vez eliminado el acetato de etilo, depende únicamente de la fuerza de interacción entre la superficie de la partícula y el estabilizante. Podemos estimar que la afinidad del polivinilalcohol (PVAL) a las partículas es mayor que la del Pluronic® F127.

La afinidad y el grosor de la capa de estabilizante sobre la superficie del polímero puede relacionarse con el potencial zeta ( $\xi$ ). Cuando moléculas estabilizantes no iónicas se adsorben en la superficie de la partícula es normal una caída en el desplazamiento, con respecto a la posición en ausencia de polímero adsorbido. En otras palabras la capa que rodea a la partícula protege una parte de la doble capa difusa contra el desplazamiento por cizalla dando como resultado un decremento del  $\xi$  con el incremento del grosor de la película (Garvey, M. J., et al., 1976 y Müller, R. H., et al., 1992). Las cadenas de polivinilalcohol están fuertemente unidas a la superficie de la nanopartícula, formando una capa muy estable.

Mediante el análisis por microscopía electrónica de barrido se pudo analizar la morfología de las nanopartículas obtenidas, determinando con claridad su estructura sólida y compacta (nanoesferas). En la figura 14 se muestra la fotografía electrónica de barrido para las nanopartículas de poliláctico co-glicólico y polivinilalcohol. La barra de la parte inferior representa una longitud de 1  $\mu\text{m}$ , ésta permite corroborar el tamaño estimado con el Nanosizer®.

Tanto las partículas obtenidas con PVAL y Resomer® RG502 como las obtenidas con Eudragit® RS100 presentaron talla nanométrica pero se prefirió continuar la investigación con el ácido poliláctico co-glicólico (Resomer® RG502) por ser éste un polímero biodegradable. Además, Ganem-Quintanar y colaboradores (2000) reportan que en estudios realizados por microscopía confocal láser se encontró que nanopartículas preparadas con ácido poli(D,L-láctico) pueden llegar a la bolsa periodontal y penetrar el epitelio sulcular.



**FIGURA 14.** Fotografía de nanoesferas de poliláctico co-glicólico y polivinilalcohol, Microscopía Electrónica de Barrido, 10000X. La barra mayor representa 1  $\mu\text{m}$ . (Tomada por el Técnico Rodolfo Robles en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM).

Para la selección del principio activo se considero primeramente que para poder incorporarse en las nanopartículas debía ser un compuesto insoluble en agua, pues la técnica de preparación usada sólo permite el encapsulamiento de este tipo de activos, además dicho compuesto debía tener actividad contra los microorganismos causantes de la gingivitis/periodontitis. Se encontraron tres posibles agentes antimicrobianos: clorhexidina, hexetidina y triclosán.

El triclosán (2,4,4'-tricloro-2-hidroxidifeniléter) es un agente antimicrobiano no catiónico que presenta eficacia contra una amplia variedad de bacterias formadoras de placa, incluidas *A. Actinomycetecomitans*, *P. Intermedia*, *F. Nucleatum* y *C. Rectus*.

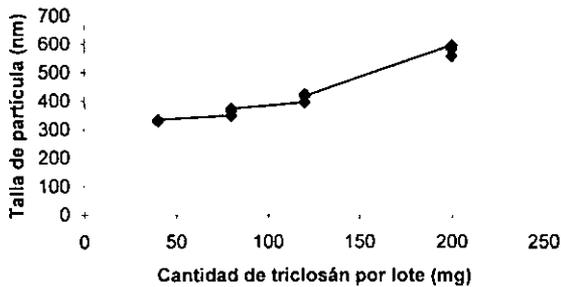
El triclosán usado en dentríficos reduce la gingivitis y la placa dental (Rosling, B., et al., 1997a) y retarda su progresión hacia periodontitis (Rosling, B., et al., 1997b); retarda la formación de nueva placa (Ramberg, P., et al., 1995 y Furuichi, Y., et al., 1997) y reduce la placa supragingival ya establecida (García Godoy, F., et al., 1990). Además en estudios realizados por Waaler y colaboradores (1993) se demostró que el triclosán puede penetrar mucosas y que la administración tópica de triclosán en compartimientos orales y extraorales reduce signos clínicos de inflamación. En un estudio reciente de gingivitis experimental se demostró que el triclosán usado en enjuague inhibe o retarda la inflamación gingival que se ocasiona en presencia de placa (Ramberg, P., et al., 1995).

Por lo anteriormente expuesto se procedió a preparar lotes de nanopartículas cargadas con diferentes cantidades de Triclosán (40, 80, 120 y 200 mg por lote de 400 mg de polímero). Las tallas de las partículas obtenidas se presentan en la tabla 15.

En la tabla 15 y en la figura 18 puede apreciarse claramente que al aumentar la cantidad de triclosán aumenta ligeramente el tamaño promedio de las nanopartículas, hasta llegar a 600 nm aproximadamente con 200 mg de triclosán.

**Tabla 15.** Nanopartículas de Resomer<sup>®</sup>RG502 con Polivinilalcohol como estabilizante cargadas con triclosán.

Triclosán (mg)	No. Lote	Talla promedio (nm)	Limites 95%
40	1	333	328-338
	2	329	326-331
	3	334	330-336
80	1	348	345-352
	2	363	359-368
	3	372	367-376
120	1	394	390-399
	2	423	416-430
	3	416	412-419
200	1	593	579-607
	2	580	566-589
	3	555	543-603

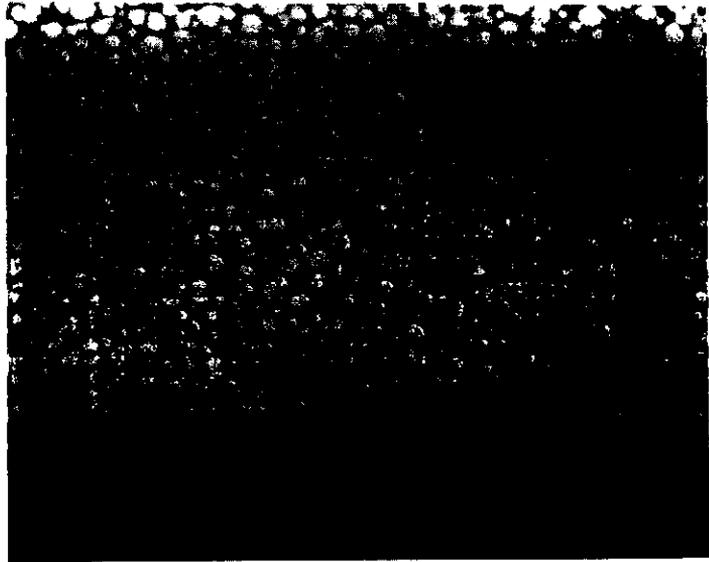


**FIGURA 15.** Comportamiento de la talla de nanopartículas de Resomer<sup>®</sup>RG502 con polivinilalcohol como estabilizante en función de la cantidad de triclosán.

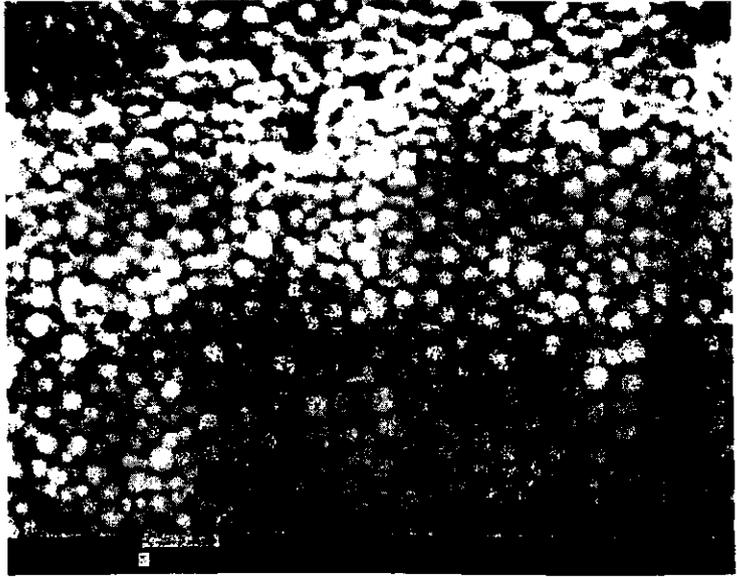
Mediante microscopía electrónica se determinó que las nanopartículas obtenidas eran sólidas y de forma casi esférica (nanoesferas) y pudo corroborarse el tamaño estimado con el Nanosizer®.

En las páginas siguientes se muestran las fotografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido para las nanopartículas cargadas con diferentes cantidades de triclosán (figuras 16-19).

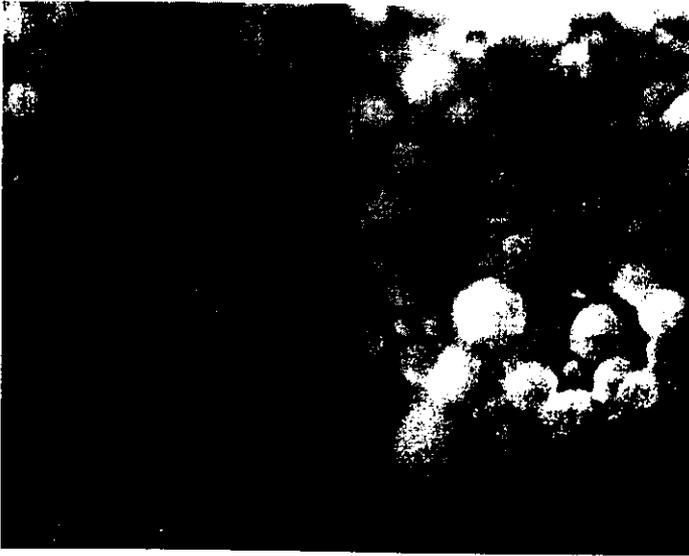
Como puede apreciarse en las figuras 18 y 19 el aumentar demasiado la cantidad de triclosán puede ocasionar un aumento en la talla de la partícula, además de provocar una disminución en la temperatura de transición vítrea del poliláctico co-glicólico, lo cual provoca que las nanopartículas comiencen a fusionarse unas con otras. También es posible que el triclosán funcione como un plastificante no convencional y favorezca la formación de películas.



**FIGURA 16.** Fotografía de nanoesferas de poliláctico co-glicólico con 40 mg de triclosán, Microscopía Electrónica de Barrido, 10000X. La barra mayor representa 1  $\mu\text{m}$ . (Tomada por el Técnico Rodolfo Robles en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM).



**FIGURA 17.** Fotografía de nanoesferas de poliláctico co-glicólico con 80 mg de triclosán, Microscopía Electrónica de Barrido, 10000X. La barra mayor representa 1  $\mu\text{m}$ . (Tomada por el Técnico Rodolfo Robles en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM).



**FIGURA 18.** Fotografía de nanoesferas de poliláctico co-glicólico con 120 mg de triclosán, Microscopía Electrónica de Barrido, 10000X. La barra mayor representa 1  $\mu$ m. (Tomada por el Técnico Rodolfo Robles en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM).



**FIGURA 19.** Fotografía de nanoesferas de poliláctico co-glicólico con 200 mg de triclosán, Microscopía Electrónica de Barrido, 10000X. La barra mayor representa 1  $\mu\text{m}$ . (Tomada por el técnico Rodolfo Robles en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM).

La cantidad residual de estabilizante en el producto final fue determinada por digestión de una cantidad conocida de nanopartículas secas en NaOH 0.1 M por 48 horas, posteriormente la solución fue neutralizada y se procedió a la cuantificación del polivinilalcohol utilizando la técnica propuesta por Joseph H. Finley ( 1961). Ésta se fundamenta en la formación de un compuesto de color verde producido por la reacción del polivinilalcohol con yodo en presencia de ácido bórico. Dicho compuesto es estable y tiene la capacidad de absorber en la región visible del espectro (Allémann, E., et al.,1993). Después de hacer un barrido de 400 a 800 nm, se decidió analizar las muestras a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 640 nm. El espectrograma obtenido para un estándar de concentración 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  se muestra en la figura 20; el método de cuantificación empleado fue previamente validado por Raygoza, T. D. (1996) y los resultados obtenidos se muestran en la tabla 16.

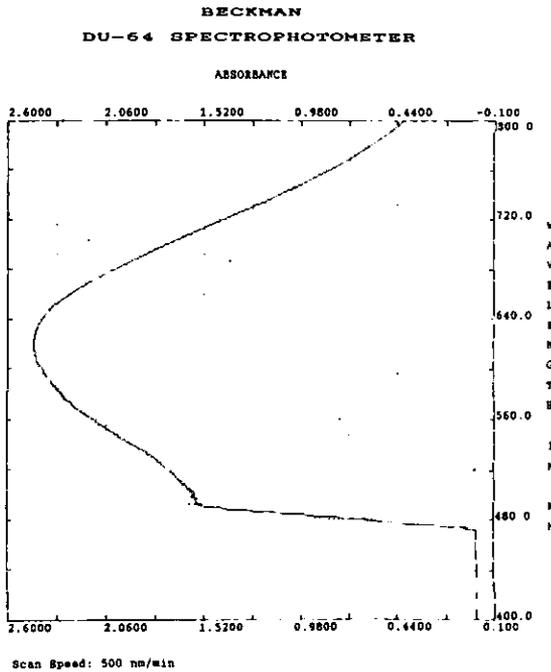
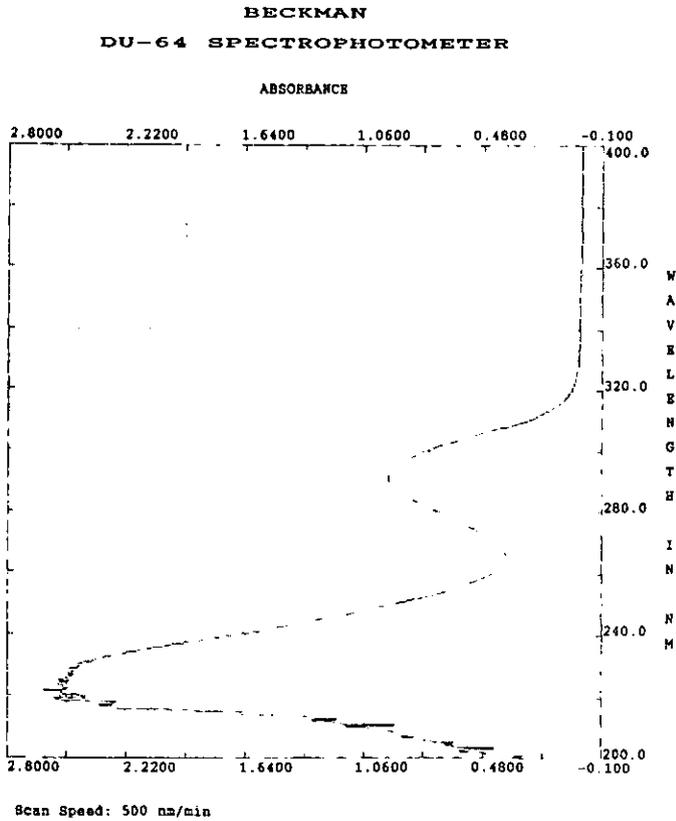


FIGURA 20. Espectrograma para un estándar de polivinilalcohol (25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) con  $\text{H}_3\text{BO}_3$  y  $\text{I}_2/\text{KI}$ .

## Resultados y Discusión

Finalmente, se determinó espectrofotométricamente la cantidad de triclosán encapsulada en las nanoesferas; el espectrograma para un estándar de triclosán de concentración 55  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 16.



**FIGURA 21.** Espectrograma para un estándar de triclosán (55  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

**Resultados y Discusión**

**Tabla 16.** Nanopartículas de Resomer<sup>®</sup>RG502 con Polivinilalcohol como estabilizante cargadas con triclosán.

<b>Triclosán (mg)</b>	<b>No. Lote</b>	<b>% encapsulado de Triclosán</b>	<b>% PVAL residual</b>
<b>40</b>	1	85.93	3.01
	2	87.02	3.44
	3	86.13	3.40
	Promedio	86.360	3.28
	Desviación estándar	0.580	0.243
<b>80</b>	1	85.28	4.93
	2	84.37	5.26
	3	84.91	5.02
	Promedio	84.553	5.07
	Desviación estándar	0.457	0.170
<b>120</b>	1	81.16	4.03
	2	78.53	4.48
	3	79.55	4.45
	Promedio	79.747	4.32
	Desviación estándar	1.326	0.252
<b>200</b>	1	84.73	5.34
	2	80.85	6.02
	3	75.20	6.43
	Promedio	80.26	5.93
	Desviación estándar	4.792	0.550

## **VI. CONCLUSIONES.**

- ✓ La técnica de emulsificación permitió la preparación de nanopartículas de Eudragit RS100 y Resomer RG502.
- ✓ Mediante la técnica de emulsificación-difusión se logró la preparación de nanoesferas de ácido poliláctico co-glicólico cargadas con triclosán con una tasa de encapsulación cercana al 80%.
- ✓ De los tres agentes estabilizantes utilizados (Epikuron 200, Pluronic F127 y alcohol polivinílico) el único que permite la formación de nanopartículas en las condiciones trabajadas fue el polivinilalcohol.
- ✓ La presencia de Triclosán en las nanopartículas posiblemente disminuye la temperatura de transición vítrea del ácido poliláctico co-glicólico, comportándose como un plastificante no convencional.
- ✓ Se logró la preparación de geles termorreversibles de fosfatidilcolina y Pluronic F127 pero no fue posible preparar las nanopartículas utilizando como estabilizantes estos compuestos.

## **VII. PERSPECTIVAS.**

- ✓ Se propone realizar las cinéticas de liberación "in vitro" del triclosán a partir de las nanoesferas obtenidas y estudiar la eficacia de las nanopartículas cargadas con triclosán contra microorganismos patógenos periodontales.
- ✓ Se sugieren estudios "ex vivo" en mandíbula porcina para evaluar la capacidad de penetración de las nanopartículas a través del epitelio sulcular.
- ✓ Este trabajo ofrece la posibilidad de realizar futuros estudios de penetración de las nanopartículas en las bolsas periodontales, analizando su impacto sobre las enfermedades periodontales.

VIII. REFERENCIAS.

- 1) Addy, M., et al. *J. Periodontol.* 53 (1982) 693-699.
- 2) Addy, M. y Langeroudi, M. *J. Clin. Periodontol.* 11 (1984) 379-386.
- 3) Addy, M. et al. *J. Periodontol.* 59 (1988) 557-564. Aftabrouhad, C. y Doelker, E. *S.T.P. Pharm. Sci.* 2 (1992) 365-380.
- 4) Ainamo, J., et al. *Internat. Dent. J.* 32 (1982) 281-292.
- 5) Ainamo, J., et al. *J. Clin. Periodontol.* 19 (1992) 723-729.
- 6) Alléman, E., et al. *J. Pharm. Biopharm.* 39 (1) (1993) 13-18.
- 7) Alléman, E., et al. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 39 (1993) 173-191.
- 8) Armstrong, J. H., et al., *J. Chem. Res.* (1994) 364-365.
- 9) Arnim, S. S., y Hagerman, D. A. *J. Am. Dent. Assoc.* 47 (1953) 271-273.
- 10) Attstrom, R. y Egelberg, J. *Periodontol. Res.* 5 (1970) 48-54.
- 11) Axelsson, P. y Lindhe, J. *J. Clin. Periodontol.* 8 (1981a) 239-248.
- 12) Axelsson, P. y Lindhe, J. *J. Clin. Periodontol.* 8 (1981b) 281-294.
- 13) Azoury, R., et al. *J. Pharm. Sci.* 77 (1988) 428-431.
- 14) Badersten, A., et al. *J. Clin. Periodontol.* 11 (1984a) 63-76
- 15) Badersten, A., et al., *J. Clin. Periodontol.* 11 (1984b) 114-124.
- 16) Baker, R. W., et al. *Proceedd. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 15 (1988) 238a-238b.
- 17) Belting, C.M., et al. *J. Periodontol.* 35 (1964) 476-480.
- 18) Bral, M. M. y Stahl, S. S. *J. Periodontol.* 48 (1977) 381-383.
- 19) Brayer, L., et al., *Clin. Prev. Dent.* 10 (1988) 23-27.
- 20) Britt, M. R. y Pohlod, D. J. *J. Periodontol.* 57 (1986) 104-107.
- 21) Caffesse, R. G., et al. *J. Periodontol.* 48 (1977) 384-391.
- 22) Carranza, F. A. y Cabrini, R. L. *Oral Surg.* 8 (1955) 1093-1095.
- 23) Carranza, F. A. y Glickman, I. *J. Periodontil.* 28 (1957) 33-38.

- 24) Carranza, F. A. y Perry, D. A. *Manual de Periodontología Clínica*. 1ª edición. Editorial Interamericana McGrawHill. México. 1993.
- 25) Carranza, F. A. y Sznajder, N. G. *Compendio de Periodoncia*. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1996.
- 26) Cimasoni, G. *Monographs in oral science*. 12 (1983) 145.
- 27) Collins, A. E., et al. *Int. J. Pharm.* 51 (1989) 103-114.
- 28) Couvreur, P., et al. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 41 (1995) 2-13.
- 29) Coventry, J. y Newman, H. N. *J. Clin. Periodontol.* 9 (1982) 129-133.
- 30) Cummins, D., et al. *U. S. Patent 241827* May 12, 1994.
- 31) Chang, K. M. *J. Periodontol Res.* 23 (1988) 39-245.
- 32) Deasy, P. B., et al. *J. Pharm. Pharmacol.* 41 (1989) 694-699.
- 33) Drisko, C., et al. *J. Periodontol.* 66 (1995) 692-696.
- 34) Drisko, C. H. *Ann. Periodontol.* 1 (1) (1996) 491-566.
- 35) Dunn, R. L., et al. *J. Dent. Res.* 62 (1983) 289.
- 36) Dzink, J. L. et al., *J. Clin. Periodontol.* 15 (1988) 316-323.
- 37) Eckles, T. A., et al. *J. Clin. Periodontol.* 17 (1990) 454-462.
- 38) Elkayam, R., et al. *J. Control. Rel.* 7 (1988) 231-236.
- 39) Esposito, E. et al. *J. Microencapsulation.* 14 (2) (1997). 175-187.
- 40) Fessi, H. et al. *Int. J. Pharm.* 55 (1989) R1-R4.
- 41) Fiehn, N. E. y Westergaard J. *Oral Microbiology and Immunology* 5 (1990) 219-222.
- 42) Finley, J. H. *Anal. Chem.* 33 (13) (1961) 1925-1927.
- 43) Friedman, M. y Golomb, G. *J. Periodont. Res.* 17 (1982) 323-238.
- 44) Friedman, M., y Steinberg, D. *Pharm. Res.* 7(4) (1990) 313-317.
- 45) Furuichi, Y., et al. *J. Clin. Periodontol* 24 (1997) 777-782.
- 46) Ganem-Quintanar, A., et al. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 44 (1997a) 107-120.

- 47) Ganem-Quintanar, A. *Étude de la perméabilité de la muqueuse orale: évaluation de diferentes approches pour augmenter le pasaje des principes actifs*. Tesis Doctoral. Universidad de Génova y Universidad Claude Bernard-Lion 1. 1997b.
- 48) Ganem-Quintanar, A., et al. *J. Controlled Release* 2000 (sometido).
- 49) García-Godoy, F., et al. *Am. J. Dent.* 3 (1990) S15-S26.
- 50) Garret, S., et al. *J. Dent. Res.* 76 (1997) 153.
- 51) Garvey, M. J., et al. *Int. J. Colloid Interface Science* 55 (1976) 440-453.
- 52) Genko, R. J., et al. *Periodoncia*. 1ª edición. Editorial Interamericana McGraw Hill. México. 1993.
- 53) Gibson, M. T. et al. *J. Clin. Periodontol.* 21 (1994) 690-700.
- 54) Golomb, G., et al. *J. Dent. Res.* 63 (1984) 1149-1153.
- 55) Goodson, J. M. *U. S. Patent* 4,175,326. Nov. 27, 1979.
- 56) Goodson, J. M., et al. *J. Periodontol.* 54 (1983) 575-579.
- 57) Goodson, J. M., et al. *J. Periodontol.* 56 (1985) 265-272.
- 58) Goodson, J. M. *J. Dent. Res.* 68 (1989) 1625-1632.
- 59) Goodson, J. M., et al. *J. Periodont. Res.* 26(1991a) 361-370.
- 60) Goodson, J. M., et al. *J. Periodont. Res.* 26 (1991b) 371-379.
- 61) Gordon, J. M., et al. *J. Clin. Periodontol.* 8 (1981a) 117-121.
- 62) Gordon, J. M., et al. *J. Periodontol.* 52 (1981b) 609-612.
- 63) Graham, J. W. *Proc. R. Soc. Med.*, 30 (1937) 1165-1180.
- 64) Greene, A. H. *J. Periodontol.* 33 (1972) 176-179.
- 65) Greenstein, G. y Polson, A. *J. Periodontol.* 59 (5) (1998) 507-520.
- 66) Hatting, J. y Ho, E. *J. Periodontal Res.* 15 (1980) 90-95.
- 67) Heijl, L. et al. *J. Clin. Periodontol.* 18 (1991) 111-116.
- 68) Higashi, K., et al. *J. Periodontal Res.* 24 (1989) 409-411.
- 69) Higashi, K., et al. *J. Periodontal Res.* 25 (1990) 1-5.
- 70) Higashi, M., et al. *J. Pharmacobio-Dyn.* 14 (1991) 72-81.

- 71) Hill, I. D., et al. *U. S. Patent* 5380530 Jan 10, 1995.
- 72) Hill, I. D., et al., *U. S. Patent* 5645841 Jul 8, 1997.
- 73) Holt, S. C., *Science* 239 (1988) 55-57.
- 74) Hoover, D. R. y Lefkowitz, W. K. *J. Periodontol.* 36 (1965) 310-313.
- 75) Jernberg, G. R. *U. S. Patent* 4,685,883. Aug 11, 1987.
- 76) Joyston-Bechal, S., *Int. Dent. J.* 37 (1987) 52-62.
- 77) Kalaitzakis, C. J., et al. *Swed Dent J.* 17 (1993) 129-137.
- 78) Kimura, S., et al. *J. Periodont. Res.* 26 (1991) 33-41.
- 79) Kinane, D. F. y Raduar, M., *J. Periodontol.* 68 (5) (1997) 421-431.
- 80) Klinge, B., et al. *J. Clin. Periodontol.* 19 (1992) 708-714.
- 81) Koller, C. y Buri, P. *S.T.P. Pharma* 3(2) (1987) 115-124.
- 82) Kostovski, A., et al., *J. Clin. Periodontol.* 21 (1994) 32-37.
- 83) Kreuter, J. *Colloidal Drug Delivery Systems* Ediciones Marcel Dekker, Inc. 1ª edición. Nueva York. 1994.
- 84) Larsen, T. *J. Periodontol.* 61 (1990) 30-34.
- 85) Lawter, J. R., et al. *Proceed. Intern, Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 17 (1990) 230-231.
- 86) Lindhe, J. et al. *J. Clin. Periodontol.* 11 (1984) 448-458.
- 87) Listgarten, M. A. *J. Clin Periodontol.* 13 (1986) 418-425.
- 88) Listgarten, M. A. *J. Periodont. Res.* 22 (1987) 172-178.
- 89) Løe, H. et al., *J. Periodontol.* 36 (1965) 177-187.
- 90) Løe, H. y Brown, L. *J. Periodontology* 2000 2 (1993) 204-208.
- 91) Loesche, W. J., et al. *J. Periodontol.* 56 (1985) 447-456.
- 92) Loesche, W. J. *U. S. Patent* 4,568,535. Feb 4, 1986.
- 93) Loesche W. J. et al. *J. Clin. Periodontol.* 20 (1993) 96-104.
- 94) Manor, A. et al. *J. Clin. Periodontol.* 16 (1989) 621-624.
- 95) Medicott, N. J., et al. *Int. J. Pharm.* 84 (1992) 85-89.
- 96) Medicott, N. J., et al. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 13 (1994) 181-203.

- 97) Miller, S. C., y Drabik B. R. *Int. J. Pharm.* 18 (1984) 269-276.
- 98) Minabe, M., et al. *J. Clin. Periodontol.* 16 (1989a) 291-294.
- 99) Minabe, M., et al. *J. Periodontol.* 60 (1989b) 113-117.
- 100) Minabe, M., et al. *J. Periodontol.* 60 (1989c) 552-556.
- 101) Moore, W., et al. *Infect. Immun.* 42 (1982) 510-516.
- 102) Müller, R. H., et al. *J. Control. Release* 1992 (20) 237-246.
- 103) Nakagawa, T., et al. *Bull. Tokio Dent. Coll.* 32 (1991) 63-70.
- 104) Newman, M. G. y Socransky, S. S., *J. Periodont. Res.* 12 (1977) 120-128.
- 105) Noguchi, T., et al. *Bull. Tokio Med. Dent. Univ.* 31 (1984) 145-153.
- 106) Norling, T., et al. *J. Clin. Periodontol.* 19 (1992) 687-692.
- 107) Oosterwaal, P. J., et al. *J. Clin. Periodontol.* 18 (1991) 245-251.
- 108) Ower, P. C., et al. *J. Clin. Periodontol.* 22 (1995) 494-500.
- 109) Pedrazzoli, V., et al. *J. Clin. Periodontol.* 19 (1992) 708-714.
- 110) Pierce, C. S., et al. *J. Infect. Dis.* 149 (1984) 479-484.
- 111) Pitcher, G. et al. *J. Clin. Periodontol.* 7 (1980) 300-308.
- 112) Quintanar, G. D., et al. *Int. J. Pharm.* 143 (1996) 133-141.
- 113) Quintanar, G. D., et al., *French Patent Appl.* 9709672. (1997a).
- 114) Quintanar-Guerrero, D. *Étude de nouvelles techniques d'obtention de suspensions de nanoparticules à partir de polymères préformés.* Tesis Doctoral. Universidad de Génova. 1997b.
- 115) Quintanar, G. D., et al., *Colloid. Polym. Sci.* 275 (1997c) 640-647.
- 116) Quintanar, G. D., et al. *Ciencia Cosmética* 4 (3) (1998a) 56-62.
- 117) Quintanar, G. D., et al. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24 (1998b) 1113-1127.
- 118) Quintanar, G. D. *J. Microenc.* 15 (1998c) 107-119.
- 119) Ramberg, P., et al. *J. Clin. Periodontol* 22 (1995) 442-448.
- 120) Ramfjord, S. P. y Nissle, R. R., *J. Periodontol.* 48 (1977) 558-565
- 121) Rams, T. E., et al. *Oral Microbiology and Immunology* 5 (1990) 166-168.

- 122) Rateitschak, K. H., et al. *Periodontology*. Volume 1. 2<sup>nd</sup> edition. Thieme Medical Publishers, Inc. New York. 1989.
- 123) Raygoza, M. G. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM, México 1996.
- 124) Rosling, B. *J. Periodontol.* 3 (1976) 38-53.
- 125) Rosling, B., et al. *J. Clin. Periodontol* 24 (1997a) 873-880.
- 126) Rosling, B., et al. *J. Clin. Periodontol* 24 (1997b) 881-887.
- 127) Scartazzini, R. y Luigi, P. *J. Phys. Chem.* 92 (1988) 829-833.
- 128) Schade, A., et al. *Int. J. Pharm.* 117 (1995) 209-217.
- 129) Scheinkein, H. A. et al. *J. Periodontol.* 69 (9) (1998) 1068-1069.
- 130) Schilli, W. , et al. *Oral Surg.* 25 (1978) 896-898.
- 131) Seymour, R. A. y Heasman, P. A. *J. Clin. Periodontol.* 22 (1995) 22-35.
- 132) Shapira, J. et al., *Spec. Care. Dentist.* 14 (1994) 158-163.
- 133) Skougaard, M. R. y Beagrie, G. S. *Acta Odontol. Scand.* 20 (1962) 467-469.
- 134) Slots, J. *J. Clin Periodontol.* 6 (1979) 351-382.
- 135) Slots, J. y Genko, R. J. *J. Dent. Res.* 63 (1984) 412-421.
- 136) Slots, J., *J. Clin. Periodontol.* 13 (1986a) 912-917.
- 137) Slots, J. , et al., *J. Clin. Periodontol.* 13 (1986b) 570-577.
- 138) Slots, J. y Rams, T. E. *J. Clin. Periodontol.* 17 (1990) 479-493.
- 139) Socransky, S. S. y Haffajee, A. D., *J. Periodontol.* 63 (1992) 322-331.
- 140) Somayaji, B. V., et al. *J. Periodontol.* 69 (4) (1998) 409-413.
- 141) Soskolne, A. J., et al. *J. Periodont. Res.* 18 (1983) 330-336.
- 142) Soskolne, W. A., et al, *J. Periodontol.* 68 (1997) 32-38.
- 143) Stabholz, A., et al. *J. Clin. Periodontol.* 13 (1986) 783-788.
- 144) Stabholz, A., et al. *J. Clin. Periodontol.* 62 (1991) 429-433.
- 145) Steinberg, D., et al. *J. Periodontol.* 61 (1990) 393-398.
- 146) Stelzel, M. y Flores de Jacobi, L. *J. Clin. Periodontol.* 23 (1996) 24-29.

## Referencias

- 147) Stelzel, M. y Flores de Jacobi, L. *J. Clin. Periodontol.* 24 (1997) 914-915.
- 148) Stolze, K. y Stellfeld, M. *J. Clin Periodontol.* 19 (1992) 693-697.
- 149) Stolze, K. *J. Clin Periodontol.* 19 (1992) 698-701.
- 150) Tanner, A. C. et al., *J. Periodontol. Res.* 19 (1984) 279-291.
- 151) Taner, I. L., et al. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.l.* 36 (1994) 183-190.
- 152) Tanner, A. et al. *J. Clin. Periodontol.* 2 (1998) 85-98.
- 153) Timmermans, M. F., et al. *J. Clin. Periodontol.* 23 (1996) 707-716.
- 154) Tonetti, M., et al. *J. Periodont. Res.* 25 (1990) 243-249.
- 155) Unsal, E., et al., *J. Periodontol.* 66 (1994) 47-51.
- 156) Van Oosten, M. A., et al. *J. Dent. Res.* 65 (1986) 1420-1423.
- 157) Van Steenberghe, D. et al., *J. Periodontol.* 64 (1993) 637-644.
- 158) Waaler, S., et al. *Sacand. J. Dent. Res.* 101 (1993) 192-195.
- 159) Wade, W. G., et al. *J. Clin. Periodontol.* 19 (1992) 127-134.
- 160) Walker. C. B., et al. *Agents. Chemoter.* 19 (1981) 867-871.
- 161) Wan Yusof, W. et al. *J. Clin. Periodontol.* 11 (1984) 166-175.
- 162) Williams, D. F. y Schmitt (editores). *Chemistry and Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry.* Chapman & Hall. Londres. 1992.
- 163) Willimann, H., et al. *J. Pharm. Sciences* 81 (9) 1992 871-874.
- 164) Yamagami, H. et al. *J. Periodontol.* 63 (1992) 2-6.
- 165) Yeung, F. I., et al. *J. Periodontol.* 54 (1983) 651-657.
- 166) Zambon, J. J. et al. *J. Periodontol.* 56 (suppl) 1985 32-41.