



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN

TÍTULO:

“Bioactividad de hidrogel-cúrcuma en cultivo con células
orales para uso postquirúrgico”

FORMA DE TITULACIÓN:

Tesis

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

GUTIÉRREZ JIMÉNEZ YARETH IDALIA AYERIM



TUTOR: Dr. René García Contreras
ASESOR: Mtra. Paloma Serrano Díaz
Dr. Juan Carlos Flores Arriaga

LEÓN, GTO. 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

ÍNDICE

<i>DEDICATORIA</i>	4
<i>AGRADECIMIENTOS</i>	5
<i>RESUMEN</i>	6
<i>ABSTRACT</i>	7
<i>INTRODUCCIÓN</i>	9
CAPÍTULO 1	10
<i>MARCO TEÓRICO</i>	11
<i>Hidrogeles</i>	11
<i>Gelatina tipo A</i>	12
<i>Cúrcuma</i>	13
<i>HGF</i>	16
<i>Antecedentes</i>	17
CAPÍTULO 2	19
<i>Planteamiento del problema</i>	20
<i>Pregunta de investigación</i>	20
<i>Justificación</i>	21
<i>Objetivos</i>	21
General.....	21
Específicos	21
<i>Hipótesis</i>	22
Hipótesis de investigación	22
Hipótesis nula	22
CAPÍTULO 3	23
<i>Marco metodológico</i>	24
Universo de estudio/muestra.....	24
Criterio de selección de la muestra	24
Criterios de inclusión	24
Criterios de exclusión.....	24
Criterios de eliminación	24
<i>Variables de estudio</i>	25
Variables dependientes	25
Variables independientes.....	27
<i>Diseño experimental</i>	28

<i>Materiales y método</i>	33
Materiales	33
Equipo.....	33
Muestra.....	33
Instrumental.....	33
Insumos	33
<i>Implicaciones éticas</i>	34
<i>Desarrollo de la metodología</i>	35
Síntesis de hidrogel a base de gelatina tipo A cargado de cúrcuma en polvo	35
Síntesis de hidrogel a base de gelatina tipo A cargado de stock de cúrcuma	35
Degradación enzimática e hidrolítica del hidrogel.....	36
Cultivo celular.....	36
Ensayo de proliferación celular	36
Efecto antiinflamatorio (Expresión de PGE ₂)	37
Susceptibilidad antimicrobiana y antifúngica	37
Microdilución	37
Conteo de colonias.....	38
<i>Análisis estadístico y representación de datos</i>	39
CAPÍTULO 4	40
<i>Resultados</i>	41
<i>Discusión</i>	50
<i>Conclusiones</i>	52
<i>Referencias</i>	53
<i>Anexos</i>	57
<i>Presentación oral</i>	58

DEDICATORIA

A Dios y al universo por permitirme desarrollar este proyecto y cumplir una de mis metas.

A mis padres, Melva y José que siempre me han brindado su apoyo incondicional, por motivarme cada día y sobre todo por su amor y cariño.

Para mis abuelos, Ma. De Jesús y Pedro por alentarme a seguir creciendo profesionalmente.

A mis primos, Yordana, Leslee y Christian quienes me han acompañado y apoyado.

A mis tías, María de Jesús, Blanca e Imelda

A la familia Ayala Lara que durante estos años me han hecho sentir parte de su familia y siempre estuvieron al pendiente de mí.

A mis amigos Martha, Daniela Trujillo, Karla Fernández, Paul, Alejandro Vargas, Miguel, Daniela Pacheco, Mariana y Enriqueta que me acompañaron durante mi formación académica haciendo este recorrido más ameno.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la ENES UNAM Unidad León por darme la oportunidad de ser parte de su comunidad.

En especial a mi tutor, Dr. René García Contreras por su confianza, paciencia, por el conocimiento que ha compartido conmigo y por inspirarme a descubrir más sobre el área de la investigación.

A mi asesora, Mtra. Paloma Serrano Díaz por su amistad, apoyo y asesorarme en este proyecto.

Al Dr. Ravichandran Manisekaran por asesorarme.

A mis pacientes que siempre confiaron en mí y sin ellos esta meta no se hubiera podido cumplir.

A todos aquellos que directa o indirectamente han contribuido a mi formación profesional.

Gracias

RESUMEN

Los hidrogeles son redes poliméricas entrecruzadas tridimensionales de naturaleza hidrofílica. Entre sus propiedades destacan la biocompatibilidad, alta absorción de agua, elásticos, alta sensibilidad a ambientes fisiológicos y su contenido de agua es muy similar a la que contienen los tejidos blandos, es por ello, que, en los últimos años, se han utilizado para la administración de fármacos. Por otro lado, la cúrcuma es una clase de planta tropical que se ha usado en la medicina asiática por lo menos desde hace 4 mil años, atribuyéndole diversos efectos terapéuticos como; actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas, analgésico, antivirales, antifúngicas y anticancerígenas.

Debido a las propiedades ya mencionadas de ambas entidades, en este estudio se obtuvo un hidrogel a base de cúrcuma. **Objetivo:** Evaluar los efectos bioactivos de hidrogeles a base de cúrcuma (HC) mediante pruebas de hinchamiento, degradación, citotoxicidad en HGF y actividad antimicrobiana en *S. aureus* y antifúngica en *C. albicans*. **Metodología** se trata de un estudio experimental puro *in vitro*. El hidrogel fue sintetizado con gelatina tipo A adicionado con 0-12.5 mg/mL de cúrcuma en polvo como primera parte y otro hidrogel adicionado con un stock de cúrcuma con DMSO en una proporción de 250 mg/10 mL. Se realizaron pruebas de degradación enzimática e hidrolíticas, analizadas con espectrofotómetro de UV-vis. La proliferación celular (24-96 h) se determinó por el ensayo de MTT y el efecto antiinflamatorio fue determinado por la expresión de prostaglandina E2 con un ensayo de ELISA, se utilizó interleucina-1 beta para inducir un estado proinflamatorio. Los ensayos antimicrobianos y antifúngicos fueron determinados por difusión en agar, microdilución y conteo de colonias. Los datos fueron analizados con pruebas de normalidad de Shapiro- Wilks y pruebas de ANOVA post hoc de Tukey. La significancia estadística fue fijada con un valor $p < 0.05$. **Resultados** De acuerdo con las pruebas realizadas en cuanto al tiempo de degradación en un medio de tripsina y PBS se obtuvo un tiempo de 30 y 45 min respectivamente para la degradación del HC. La proliferación celular a las 96 horas no se alteró ($p > 0.05$) por la presencia de los hidrogeles a base de cúrcuma en polvo, al igual que no se vio alterada al usar el stock de cúrcuma, por lo que son determinados como no citotóxicos (87.03 ± 1.16), independientemente de la dosis de cúrcuma con valores. La expresión de PGE_2 disminuyó ($p < 0.05$) de forma dosis-dependiente. Se observó una inhibición ($p < 0.05$) en *S. aureus* a dosis de 1.5 mg/mL de hidrogel con cúrcuma, mientras que en *C. albicans* no mostró efectos antifúngicos por medio del ensayo de difusión en agar. En cambio, al utilizar el hidrogel adicionado con el stock de cúrcuma mediante el ensayo de microdilución y conteo de colonias se observó que, si existe un efecto bactericida de los hidrogeles contra *S. aureus* de manera dosis dependiente, al igual que un efecto antifúngico contra *C. albicans*. **Conclusiones** Los hidrogeles a base de cúrcuma se degradan en promedio a los 40 min, tienen una aceptable biocompatibilidad en HGF ya sea en polvo o líquida, con efectos antiinflamatorios, un efecto bacteriostático y antifúngico al utilizarse en estado líquido. Esto nos indica que los hidrogeles a base cúrcuma pueden contribuir a la cicatrización de heridas, a desinflamar y prevenir infecciones posteriores a un proceso quirúrgico.

Palabras clave: cúrcuma, hidrogel, bioactividad.

ABSTRACT

Hydrogels are three-dimensional cross-linked polymeric networks of hydrophilic nature. Their properties include biocompatibility, high water absorption, elasticity, high sensitivity to physiological environments and their water content is very similar to that contained in soft tissues, which is why, in recent years, they have been used for drug delivery. On the other hand, turmeric is a kind of tropical plant that has been used in Asian medicine for at least 4 thousand years, attributing to it diverse therapeutic effects such; as antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, analgesic, antiviral, antifungal and anticancer activities. Due to the aforementioned properties of both entities, a turmeric-based hydrogel was obtained in this study. **Objective:** To evaluate the bioactive effects of turmeric (HC) based hydrogels by means of swelling, degradation, cytotoxicity in HGF and antimicrobial activity in *S. aureus* and antifungal activity in *C. albicans*. **Methodology** this is a pure *in vitro* experimental study. The hydrogel was synthesized using gelatin type A mixed with 0-12.5 mg/mL turmeric powder as the first part and another hydrogel added with turmeric stock with DMSO at a ratio of 250 mg/10 mL. Enzymatic and hydrolytic degradation tests were performed, analyzed with UV-vis spectrophotometer. Cell proliferation (24-96 h) was determined by MTT assay and anti-inflammatory effect was determined by PGE₂ expression with an ELISA assay, interleukin-1 beta was used to induce a proinflammatory state. Antimicrobial and antifungal assays were determined by agar diffusion, microdilution and colony counting. Data were analyzed with Shapiro- Wilks normality tests and Tukey's post hoc ANOVA tests. Statistical significance was set at $p\text{-value}<0.05$. **Results** According to the tests performed regarding degradation time in trypsin and PBS medium, a time of 30 and 40 min respectively was obtained for HC degradation. Cell proliferation at 96 h was not altered ($p>0.05$) by the presence of the turmeric powder-based hydrogels, just as it was not altered when using turmeric stock, so they are determined as non-cytotoxic (87.03 ± 1.16), regardless of the turmeric dose with different ratios. PGE₂ expression decreased ($p<0.05$) in a dose-dependent manner. Inhibition ($p<0.05$) was observed in *S.aureus* at 1.5 mg/mL dose of HC, while *C. albicans* showed no antifungal effects by agar diffusion assay. On the other hand, when using the hydrogel added with turmeric stock by means of the microdilution and colony count assay, it was observed that there is a bactericidal effect of the hydrogel against *S. aureus* in a dose-dependent manner, as well as an antifungal effect against *C. albicans*. **Conclusions** Turmeric-based hydrogels degrade on average of 40 min, with an acceptable biocompatibility in HGF both in powder and liquid form, with anti-inflammatory effects, a bacteriostatic and antifungal effect when used in liquid form. This indicates that the turmeric-based hydrogels can contribute to a wound healing, that can reduce inflammation and prevent infections following a surgical procedure.

Keywords: Turmeric, Hydrogel, bioactivity

INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son redes poliméricas entrecruzadas tridimensionales de naturaleza altamente hidrofílica. Entre sus propiedades destacan la biocompatibilidad, alta absorción de agua y elásticos. Existen dos tipos de hidrogeles, los naturales y los sintéticos. Los hidrogeles naturales están hechos principalmente a base de polímeros naturales, proteínas tales como colágeno, gelatina y fibrina o polisacáridos como alginato de quitosano y ácido hialurónico.¹

Por otro lado, el uso de materiales naturales se ha utilizado ampliamente y un ejemplo de ello es la cúrcuma, una planta tropical, cuyo uso más común es como especia.² En la medicina asiática su uso se atribuye a efectos terapéuticos como actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, antifúngicas y anticancerígenas, disminuyendo la tensión arterial, mejorando afecciones estomacales, disminuyendo síntomas de artritis y, en cuanto a la relación con el área odontológica, destaca en la efectividad para tratar enfermedad periodontal, halitosis, estomatitis y mucositis pediátrica.³

Además de lo antes mencionado, también posee efectos analgésicos actuando a nivel del sistema nervioso central y periférico.⁴ Los mecanismos de acción con los que actúa son la inhibición de determinados factores de transcripción involucrados en la inflamación y la alteración de las vías de señalización del dolor a través de canales iónicos.⁵ Entre sus principales efectos destacan su función antioxidante y antiinflamatoria por su efecto en el plasma.⁶

Una de las enfermedades inflamatorias de la cavidad oral más sobresaliente es la enfermedad periodontal y se ha encontrado que su prevalencia es del 50 % tan solo en Estados Unidos de América, en cuanto a la población global con un porcentaje del 10-15 % incrementando según el rango de edad, debido a esto la medicina tradicional puede considerarse un tratamiento viable por su fácil alcance.⁷ Estudios previos han reportado que la cúrcuma posee un efecto citotóxico moderado con un efecto antiinflamatorio en un modelo de gingivitis *in vitro* con la utilización de fibroblastos gingivales humanos (Del inglés, *Human Gingival Fibroblast*, HGF) denotando de esta forma el uso clínico potencial prometedor para pacientes con gingivitis y periodontitis.⁸

La hipótesis planteada se refiere a que el uso de hidrogeles a base de cúrcuma tendrá un efecto benéfico sobre los (HGFs) reaccionando de manera biocompatible con efectos antiinflamatorios, antimicrobianos en cultivo con *S. aureus* y antifúngicos en cultivo con *C. albicans*.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue el de evaluar los efectos bioactivos de hidrogeles a base de cúrcuma (HC) mediante pruebas de hinchamiento, degradación, proliferación de HGF, desinflamación y actividad antimicrobiana en *S. aureus* y actividad antifúngica en *C. albicans*.

En este estudio experimental, se realizó una síntesis del hidrogel con gelatina tipo A, la cual se obtiene a partir de la hidrólisis parcial del colágeno de la piel, tejido conectivo y huesos de los animales, creando dos grupos; uno adicionado con cúrcuma en polvo y otro adicionado con un stock a base de cúrcuma y dimetil sulfóxido (DMSO).

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

Hidrogeles

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales, macromoleculares de naturaleza hidrofílica, que se producen por reticulación química o física de polímeros solubles.¹

Entre sus propiedades destacan la biocompatibilidad, alta absorción de agua, elásticos,² así como su alta sensibilidad a los ambientes fisiológicos, la naturaleza hidrófila, el contenido de agua similar a los tejidos blandos, los hacen excelentes candidatos para aplicaciones biomédicas.³

Una de las propiedades más importantes que presentan los hidrogeles es su grado de hinchamiento.⁴

Clasificación de los hidrogeles

Los hidrogeles se pueden clasificar según su origen en naturales y sintéticos. Los hidrogeles naturales están hechos principalmente a base de polímeros naturales, proteínas tales como colágeno, gelatina, y fibrina o polisacáridos como el alginato, el quitosan y ácido hialurónico.⁵ Mientras que algunos ejemplos de hidrogeles sintéticos son a base de poli (láctico-co-glicólico) PGL, poli (ácido acrílico) PAA, poli (etilenglicol) PEG, poli (alcohol vinílico) PVA y polipéptidos.⁶

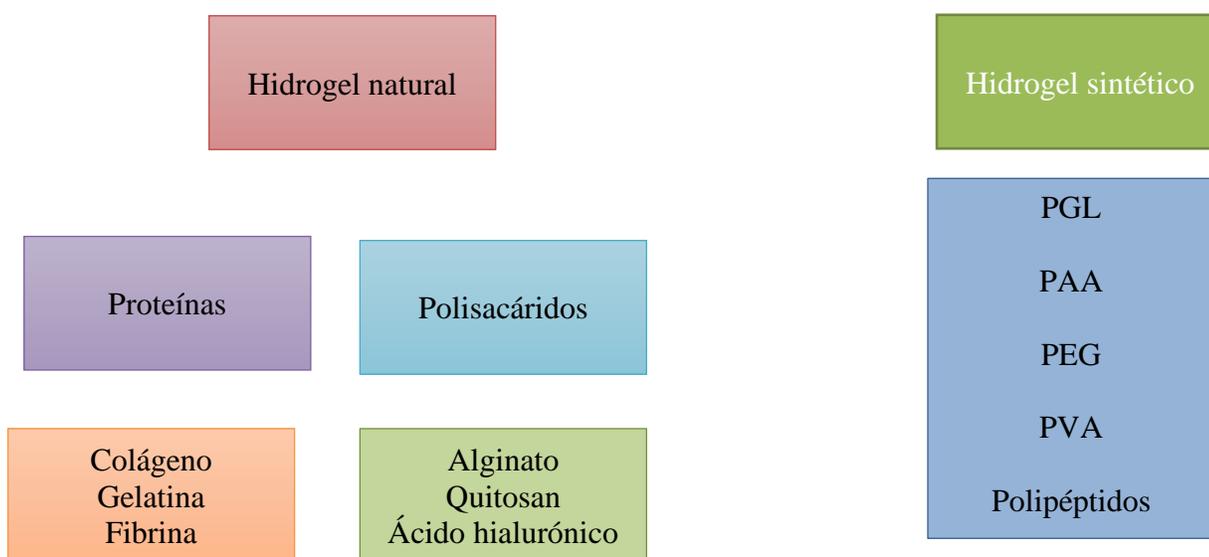


Figura.1. Clasificación de los hidrogeles según su origen. Fuente propia.

Características de los hidrogeles

Es importante que los hidrogeles tengan una excelente biocompatibilidad y que los productos de degradación producidos tengan un bajo potencial tóxico. En este caso, que se puedan metabolizar en productos no tóxicos.⁷

Debido a que es una red tridimensional absorben una gran cantidad de agua y a esto se debe su hinchamiento, es decir, que aumenta su volumen mientras mantienen su forma hasta alcanzar un equilibrio físico químico. Su carácter hidrófilo se debe a la presencia de grupos funcionales hidrófilos como: OH, COOH, CONH, entre otros. Son considerados materiales inertes por lo que las células y proteínas no tienden a pegarse a su superficie.⁸

Aplicaciones de los hidrogeles

En los últimos años se ha prestado atención del uso de hidrogeles para la administración de fármacos, como andamios para ingeniería tisular y medicina regenerativa.

Gelatina tipo A

La gelatina es una proteína soluble en agua obtenido por hidrólisis y extracción de colágeno del tejido conectivo de la piel, huesos y tendones de animales, que se ha utilizado ampliamente en las industrias alimentaria, farmacéutica, médica y cosmética.⁹

Las gelatinas están disponibles de diferentes fuentes animales a través de diferentes procesos de hidrólisis, que influyen en las propiedades fisicoquímicas de los hidrogeles. Una hidrólisis ácida conduce a una gelatina con un pH de 9.0, a esta gelatina se le denomina de tipo A, mientras que una hidrólisis alcalina conduce a un pH de 5.0 que es gelatina tipo B.¹⁰

La gelatina tiene muchas buenas propiedades funcionales, como gelificación, espesamiento, formación de película, texturización, emulsificación, adhesividad y capacidad de encapsulación.¹¹

La gelatina generalmente forma un gel termo reversible después de disolverse en agua a una temperatura determinada y el enfriamiento puede hacer que la solución de gelatina se solidifique para formar hidrogel.

Se ha demostrado que es un vehículo eficaz para la liberación de fármacos y puede aumentar las actividades terapéuticas tanto de los fármacos solubles en agua como de los insolubles en agua.¹²

El uso de gelatina como matriz de liberación de fármacos tiene dos ventajas en comparación con otros sistemas de liberación. Primero, se prefiere la gelatina para suprimir las respuestas inflamatorias inducidas por el material. En segundo lugar, la gelatina puede liberar el fármaco incorporado por su degradación y, finalmente, se elimina.¹³

Cúrcuma

La cúrcuma es una clase de planta tropical, miembro de la familia del jengibre, Zingabaraceae. Crecen naturalmente en India, China, Australia y varios países de la misma región. El uso más común de la cúrcuma es como especia en polvo, la cual es de un color amarillo vibrante.¹⁴

Los componentes de la cúrcuma se denominan curcuminoides, que incluye principalmente a la curcumina (diferuloilmetano), la cual constituye aproximadamente 90 % del contenido de curcuminoides. Estos son los que dan a la cúrcuma su color amarillo brillante.¹⁵

En la medicina asiática su uso se remonta al menos a 4 mil años. Atribuyéndole diversos efectos terapéuticos como actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, antifúngicas y anticancerígenas, disminuyendo la presión arterial, mejorando afecciones estomacales, reduciendo síntomas de artritis y en cuanto a la relación con el área de odontología, ha sido efectiva para tratar periodontitis, halitosis, estomatitis y mucositis pediátrica.¹⁶

La administración de drogas y alimentos ha clasificado a la cúrcuma entre las sustancias generalmente reconocido como seguro (GRAS).

Se ha encontrado que la cúrcuma modula la acción celular de varios factores de crecimiento, citocinas y factores de transcripción que podrían estar involucrados en el proceso inflamatorio.¹⁷

Sus propiedades antiinflamatorias pueden atribuirse a su capacidad para inhibir tanto la biosíntesis de prostaglandinas inflamatorias del ácido araquidónico y la función de neutrófilos durante estados inflamatorios. También se descubrió que la administración oral de cúrcuma en casos de inflamación aguda era tan eficaz como la cortisona o la fenilbutazona y la mitad de efectivo en casos de inflamación crónica.¹⁸

La cúrcuma también posee efectos analgésicos actuando a nivel del sistema nervioso central y periférico; sus posibles mecanismos de acción son la inhibición de determinados factores de transcripción involucrados en la inflamación y la alteración de las vías de señalización del dolor a través de canales iónicos.¹⁹

Aplicaciones dentales

Aplicación tópica en pasta hecha de 1 cucharadita de cúrcuma con ½ cucharadita de sal y ½ cucharadita de aceite de mostaza alivia la gingivitis y la periodontitis. Se recomienda frotar los dientes y las encías con esta pasta dos veces al día.²⁰

En un estudio de Waghmare se concluyó que el gluconato de clorhexidina, así como el enjuague bucal de cúrcuma se pueden usar de manera efectiva como un complemento de los métodos de control mecánico de la placa para prevenir la placa y la gingivitis. Se encuentra que el enjuague bucal de cúrcuma preparado, disolviendo 10 mg de extracto de curcumina en 100 mL de agua destilada y 0.005 % de agente aromatizante de aceite de menta con un pH ajustado a 4 es tan efectivo como el enjuague bucal con clorhexidina más utilizado.²¹

En un estudio realizado por Behal, donde colocó un gel de cúrcuma al 2% en pacientes con periodontitis después de un tratamiento de raspado y alisado radicular, lo que se encontró fue que hubo una reducción significativa en la actividad enzimática similar a la tripsina de los microorganismos del "complejo rojo". Se observó una mayor reducción en todos los parámetros en el grupo experimental en comparación con los del grupo control. Por lo tanto, el sistema local de administración de medicamentos que contiene un 2% de gel de cúrcuma completo se puede usar como un complemento para el raspado y alisado radicular.²²

Irrigante subgingival

En un estudio realizado por Suhag *et al.*, los sitios periodontales fueron tratados en el día 0 (línea de base) por un solo episodio de desescamación y cepillado radicular. Posteriormente, los sitios seleccionados se irrigaron (régimen de riego triple) con solución salina (0.9 %), clorhexidina (0.2 %), curcumina (1 %), o sirvieron como sitios de control no irrigados en el día 0 (línea de base) inmediatamente después de la instrumentación. El régimen de riego triple se repitió durante los siguientes 5 días consecutivos y en los días 15 y 21. Los parámetros clínicos registrados fueron profundidad de bolsa (PPD), sangrado al sondaje (BOP) y enrojecimiento en 200 sitios en 20 pacientes con periodontitis. Los resultados indicaron que los sitios irrigados tuvieron una mejora significativa en todos los parámetros en comparación con los sitios no irrigados en los días 2, 3, 4 y 5. El grupo de curcumina mostró una reducción significativa en BOP (100 %) y enrojecimiento (96 %) en comparación con el grupo de clorhexidina y el grupo de solución salina en el día 5. Sin embargo, la diferencia entre los grupos no fue significativa en las próximas visitas. La reducción media de PPD fue significativamente mayor para el grupo de curcumina que para todos los demás grupos en todos los días posteriores al tratamiento. Por lo tanto, la solución de curcumina al 1% puede causar una mejor resolución de los signos inflamatorios que la clorhexidina y la irrigación salina como irrigante subgingival.²³

Sellados de fosas y fisuras

Este sellador se puede producir a partir de una composición que comprende un sistema de resina polimerizable que contiene monómero de acrílico y al menos un colorante seleccionado del grupo que consiste en extracto de anato, extracto de cúrcuma y β -Apo-8'-Carotenal.²⁰

Propiedades anticancerígenas

Se ha descubierto que la curcumina posee actividades anticancerígenas debido a su efecto sobre una variedad de vías biológicas involucradas en mutagénesis, expresión de oncogenes, regulación del ciclo celular, apoptosis, tumorigénesis y metástasis. Potencia el efecto de quimioterapia y actúa como un potenciador de la radioterapia. Además, se encuentra que detiene las células carcinomatosas en la fase G2/M del ciclo celular, en el que las células son más susceptibles a los efectos citotóxicos de la radioterapia.²⁴

Lesiones precancerosas

También se ha estudiado su papel en el tratamiento de diversas afecciones precancerosas, como la fibrosis submucosa oral, la leucoplasia y el liquen plano. El extracto de cúrcuma y el aceite de cúrcuma han demostrado actividad oncopreventiva en experimentos con animales *in vitro* e *in vivo*. Los síntomas locales de sensación de ardor y dolor se redujeron y también se observó una inversión parcial de la apertura de la boca.²⁵

En pacientes sometidos a cirugía, la aplicación oral de curcumina reduce la inflamación postoperatoria.

Existen ensayos clínicos en humanos también indican que la curcumina no tiene toxicidad cuando se administra a dosis de 1-8 g/ día y 10 g/día.²⁶

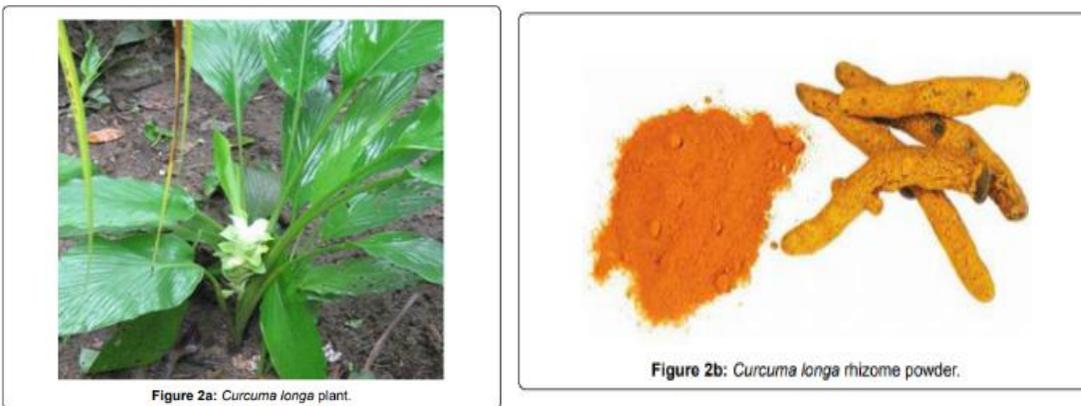


Figura. 2a. Planta de curcuma longa **2b.** Polvo de curcuma
Rajadurai S, C. K. (2015). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Curcuma longa Natural Dye. *General Medicine: Open Access*, 03(02).

Antecedentes del uso de cúrcuma ²⁷

1815 se aísla por primera vez la curcumina (diferuloilmetano).

1973 Roughley y Whiting encontraron la estructura de la sustancia.

1974 se conoce la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto alcohólico de C. longa, de la curcumina y de sus aceites esenciales contra bacterias Gram positivas.

1978 se demostró la actividad antifúngica de la curcumina.

1987 se comprobó que la cúrcuma era bastante toxica para *Salmonella typhimurium*, aunque no para *Escherichia coli*.

HGF

Los fibroblastos gingivales humanos, HGF, por sus en inglés (*Human Gingival Fibroblast*), constituyen el tejido conectivo blando que rodea el hueso, son las células más comunes y menos especializadas del tejido conjuntivo, son los principales tipos celulares encontrados en el periodonto, se encargan de la síntesis y el mantenimiento de la matriz extracelular y presentan gran capacidad para diferenciarse, dando lugar a otros tipos celulares más especializados de tejido conjuntivo. Son de origen mesenquimal esenciales, están involucrados en los procesos de cicatrización, ya que cuando ocurre daño tisular, se induce mitosis de fibroblastos y se estimula la producción de colágeno, que aísla el tejido y favorece su reparación.²⁸

El fibroblasto es una célula dinámica, la cual ejerce funciones tisulares a nivel local y del sistema inmune, y al evaluarlo en cultivo se han encontrado que no son homogéneos entre sí, sino que presentan diferencias en morfología y función de acuerdo con la ubicación en que se encuentren. Dentro de sus principales funciones se encuentra la formación de fibras del tejido conectivo denominadas colágeno y elastina; sin embargo, cabe anotar que el fibroblasto desempeña otros roles importantes como:²⁹

- Producción y mantenimiento de la sustancia fundamental en la cual sus productos fibrosos son embebidos.
- Capacidad de sintetizar y fagocitar el colágeno y los componentes de la matriz extracelular en procesos de remodelación del tejido conectivo.
- Exhiben contractilidad y motilidad utilizadas en la determinación de la organización estructural del tejido conectivo, especialmente durante la embriogénesis.
- Producción de citoquinas con la capacidad de promover la destrucción tisular y estimular la reabsorción ósea mediada por osteoclastos.

Hakkinene y Larjava encontraron que, en tejido sano, las células son de forma de espiral, epitelializadas y estrelladas. En contraste, solo células estrelladas elongadas fueron observadas en el tejido de granulación.³⁰

Ko et al., 1984, reportaron que aproximadamente el 50% de los fibroblastos gingivales humanos (FGH), son responsables a la terapia con PGE₂, revelando una reducción en los mecanismos de transporte de membrana y actividad sintética. Simultáneamente, además de responder a la terapia con PGE₂, el fibroblasto participa en la producción de la misma.³⁰

Antecedentes

En los últimos años, se ha buscado proponer nuevas formas para administrar fármacos de manera controlada con el objetivo de que el tratamiento terapéutico sea más efectivo y cómodo para los pacientes, siendo los hidrogeles los más estudiados debido a sus potenciales aplicaciones y sus propiedades.

Wichterle y Limm en 1960 realizaron un hidrogel de poli (metacrilato de 2- hidroxietilo) (PHEMA) propuesto como material para realizar lentes de contacto blandas. En este estudio se hicieron evidentes las propiedades de los hidrogeles.³¹

En un estudio realizado en Theran, Iran en 2015 por Fallah y col., consistió en fabricar, caracterizar y examinar la viabilidad de utilizar nanofibras de policaprolactona / gelatina con cúrcuma. Se realizaron pruebas antibacterianas contra *S. aureus* resistente a metilicina. Los resultados mostraron que las nanopartículas tienen una potente actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. También se observó que la degradación de estas nanofibras fue lenta, lo que es favorable para la cicatrización de heridas.³²

Otro estudio realizado en Malasia en 2018 evaluó las propiedades fisicoquímicas del hidrogel de gelatina tipo B reticulado con genipin incorporando extracto etanólico de cúrcuma. La evaluación demostró que las propiedades mecánicas del hidrogel mejoraron y el grado de hinchamiento disminuyó debido a la presencia del genipin, esto permitió la liberación controlada de cúrcuma desde la matriz del hidrogel.³³

En el año 2019, en Vietman se llevó a cabo un estudio preliminar de un material compuesto de gelatina tipo B, nano partículas de plata y cúrcuma por sus propiedades bactericidas y antioxidantes. La evaluación de este material se centró en aspectos antibacterianos, antioxidantes y citotóxicos. El ensayo bactericida fue contra *S.aureus* y *P.aeruginosa*. Los resultados sugirieron que el hidrogel podría utilizarse como agente terapéutico potencial para tratar heridas por sus efectos bactericidas y antioxidantes, así como su baja toxicidad.³⁴

Li y col. en China crearon un nano-hidrogel inyectable *in situ*, compuesto de cúrcuma, N, O-carboximetil quitosano y alginato oxidado, el cual se desarrolló con la finalidad de crear un apósito para la reparación de heridas dérmicas. Al modificar la cúrcuma, su estabilidad mejoró. El estudio de liberación *in vitro* reveló que la nanocurcumina encapsulada se liberó lentamente del hidrogel con difusión controlada. El estudio de cicatrización de heridas *in vivo* se realizó mediante la inyección de hidrogeles en heridas dorsales de rata. El estudio histológico reveló que la aplicación de nanocurcumina/hidrogel CCS-OA podría mejorar significativamente la reepitelización de la epidermis y

depósito de colágeno en el tejido de la herida. Los resultados también indicaron que el hidrogel podría acelerar el proceso de curación de la herida.³⁵

Otro estudio realizado también en China consistió en la preparación y aplicación de un sistema de administración controlada de fármacos biodegradable que forma un gel, compuesto de micelas cargadas con curcumina e hidrogel termosensible. Debido a su alta hidrofobicidad, la curcumina se encapsuló en micelas poliméricas (CureM) con alta carga de fármaco y encapsulación. Se preparó un hidrogel termosensible cargado con CureM (CureMeH) y se aplicó como apósito para mejorar la cicatrización de la herida cutánea. Los estudios *in vitro* sugirieron que CureMeH exhibía una buena adherencia al tejido y podría liberar curcumina en un período prolongado.

Además, se emplearon modelos de heridas de incisión lineal y de escisión de espesor total para evaluar la actividad de curación de heridas *in vivo* de CureMeH. En el modelo de incisión, el grupo tratado con CureMeH mostró una mayor resistencia a la tracción y epidermis más gruesa. En el modelo de escisión, el grupo CureMeH mostró una mejora de cierre de herida. Además, en ambos modelos, los grupos tratados con CureMeH mostraron un mayor contenido de colágeno, mejor granulación, mayor madurez de la herida. El examen histopatológico destacó que CureMeH podría mejorar la reparación de heridas de la piel. En conclusión, el compuesto biodegradable CureMeH podría tener una gran aplicación para cicatrización de la herida.³⁶

CAPÍTULO 2

Planteamiento del problema

Para todo odontólogo después de realizar un tratamiento quirúrgico su principal objetivo es disminuir las molestias postoperatorias de sus pacientes. Atendiendo principalmente la inflamación, el dolor, prevenir posibles infecciones, disminuir la molestia al consumir alimentos, evitar traumatismos en la zona intervenida, así como problemas gastrointestinales debido al protocolo farmacológico que se sigue habitualmente.

Debido a las actividades de cada paciente es posible que el tratamiento farmacológico se vea interrumpido o suspendido definitivamente, ocasionando dolor y en muchas ocasiones se presente una infección.

Desde un punto de vista clínico no existe en el mercado un apósito que contenga algún agente terapéutico, el cuál tenga una acción local ayudando a disminuir las molestias mencionadas con anterioridad y que sirva como una barrera para prevenir el crecimiento de microorganismos por ejemplo, *S.aureus* y *C.albicans*.

En la medida que aquí se adopta, en los últimos años se han llevado a cabo diversos estudios para conocer las propiedades terapéuticas de la cúrcuma, ya que se considera como una sustancia segura para su consumo.

Se busca crear un material biocompatible que pueda usarse como apósito post quirúrgico para brindarle a los pacientes una recuperación satisfactoria y que el odontólogo tenga la seguridad de que su paciente va a tener un proceso de cicatrización idóneo.

Sin embargo, hasta la fecha no se ha evaluado el impacto de la cúrcuma en cultivos celulares orales, tampoco se conoce con exactitud la dosis en las que puede ser utilizada sin perder sus propiedades.

Específicamente en el área de la odontología se busca el desarrollo de biomateriales utilizando las propiedades de plantas medicinales como una alternativa a los productos comerciales.

Es por esto, que en este estudio se evaluara la bioactividad de la cúrcuma en células orales mediante un hidrogel y su posible uso postquirúrgico.

Pregunta de investigación

¿Cuál es la bioactividad de un hidrogel a base de gelatina tipo A con cúrcuma en cultivo con células orales, cultivos de *S. aureus* y *C. albicans*?

Justificación

Las infecciones son las principales complicaciones postquirúrgicas, en un 50 %, siendo la alveolitis la más frecuente, seguido por trismus y otros factores con un 16.67 % respectivamente, edema y hemorragia con 8.33 % cada uno. Del 100 % de los pacientes 8.33 % no sigue las instrucciones postquirúrgicas que se le indican.³¹

La importancia de evaluar la bioactividad de un hidrogel con cúrcuma radica en observar su mecanismo de acción respecto a células orales (HGF) y su actividad antimicrobiana y antifúngica, ya que no existen estudios previos de su aplicación en odontología.

Se propone trabajar con cúrcuma, ya que en la última década se ha potencializado su uso por las excelentes propiedades terapéuticas que posee.

Por otro lado, no existe en el mercado un producto que tenga la función de apósito quirúrgico hecho a base de cúrcuma que nos ayude a tener mejor control de la cicatrización, la inflamación, así como prevenir infecciones postquirúrgicas.

Objetivos

General

Evaluar la bioactividad del hidrogel con cúrcuma en cultivos con fibroblastos gingivales humanos (HGF), así como su efecto antimicrobiano en cultivos con *S. aureus* y anti fúngico en cultivos con *C. albicans*.

Específicos

1. Desarrollar un hidrogel a base de gelatina tipo A cargado con cúrcuma en distintas dosis.
2. Comparar la efectividad de la cúrcuma en polvo y cúrcuma en estado líquido utilizando como solvente DMSO.
3. Evaluar el tiempo de degradación hidrolítica y enzimática de dichos hidrogeles.
4. Determinar la proliferación celular del hidrogel con cúrcuma en distintas dosis en cultivo con HGF.
5. Conocer el efecto anti-inflamatorio del hidrogel con cúrcuma en distintas dosis en cultivo con HGF
6. Identificar el efecto antimicrobiano y anti fúngico del hidrogel en cultivos con *S.aureus* y *C.albicans*.

Hipótesis

Hipótesis de investigación

El uso de un hidrogel a base de cúrcuma tendrá un efecto benéfico sobre las células gingivales (HGF) reaccionando de manera biocompatible con efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y antifúngicos en cultivo con *S. aureus* y *C. albicans*.

Hipótesis nula

El uso de un hidrogel a base de cúrcuma no tendrá ningún efecto benéfico sobre las células gingivales (HGF) reaccionando de manera no biocompatible, sin tener efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y antifúngicos en cultivo con *S. aureus* y *C. albicans*.

CAPÍTULO 3

Marco metodológico

Tipo de estudio: Experimental *in vitro*

Diseño de estudio: Puro, descriptivo, prospectivo y comparativo.

Universo de estudio/muestra

Universo de estudio:

1. Hidrogeles con cúrcuma en concentraciones de 1.5 mg, 3.1 mg, 12.5 mg y grupo control.
2. Hidrogeles con cúrcuma en concentraciones de stock de 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL, 1 mL y grupo control
3. Número de células orales cultivadas de tejido oral humano.
4. Microorganismos *S. aureus* y *C. albicans*.

Muestra: No probabilística.

Tamaño de muestra: Triplicado de experimentos independientes (n=9)

Criterio de selección de la muestra

Criterios de inclusión

Hidrogeles solo con gelatina tipo A

Hidrogeles con cúrcuma a 1.5 mg, 3.1 mg y 12.5 mg

Hidrogeles con stock de cúrcuma a 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL, 1 mL

Criterios de exclusión

Hidrogeles que tengan más de una semana en refrigeración.

Criterios de eliminación

Cultivos celulares y/o bacterianos contaminados.

Muestra de hidrogeles contaminadas.

Variables de estudio

Variables dependientes

Variable dependiente	Definición Conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Degradación	Se produce como consecuencia del contacto del material con un medio acuoso, provocando el inflamamiento, ruptura de puentes de hidrógeno intermoleculares, hidratación de las moléculas y finalmente la hidrólisis de los enlaces inestables.	Se utilizó PBS y tripsina como medio, y se mantuvieron las muestras en agitación constante.	Cualitativa Contable.	De razón Absorbancia.
Citotoxicidad.	El número de células sanas en una muestra determina la cantidad de células que están vivas o muertas basándose en la muestra total de células.	Se evaluó ensayo MTT por contacto directo e indirecto de viabilidad celular según la norma ISO 10993 a 24 h.	Cuantitativa.	De razón Viabilidad celular (%)
Proliferación celular.	Es el incremento de número de células por división.	Se evaluó ensayo de MTT por contacto directo e indirecto proliferación celular según norma ISO 10993 a 24-96 h.	Cuantitativa.	De razón Viabilidad celular (%)

<p>Efecto antimicrobiano y antifúngico.</p>	<p>El crecimiento del microorganismo infectante o el patógeno, es inhibido por una concentración del agente antimicrobiano/ Antifúngico, más alta que el rango observado para cepas silvestres.</p>	<p>Se evaluó mediante el método de determinación de sensibilidad antimicrobiana, por dilución y difusión en agar.</p>	<p>Cuantitativa.</p>	<p>De razón Absorbancia (%).</p>
<p>Desinflamación</p>	<p>Desaparición de la inflamación del tejido de un organismo.</p>	<p>Se evaluó con ayuda del kit de Elisa.</p>	<p>Cuantitativa.</p>	<p>De razón Absorbancia. (%)</p>

Variables independientes

Variable independiente	Definición Conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Tipo de hidrogel.	Redes poliméricas tridimensionales, de naturaleza hidrofílica. Puede ser natural o sintético.	Hidrogel natural hecho a base de gelatina tipo A.	Cualitativa Dicotómica.	Nominal 1) Con cúrcuma. 2) Sin cúrcuma.
Concentración de cúrcuma.	Proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución.	Se utilizaron 3 concentraciones de cúrcuma (12.5 mg, 3.1 mg y 1.5 mg) y un control sin cúrcuma.	Cualitativa Politómica.	Nominal 1) Control 2) 1.5 mg 3) 3.1 mg 4) 12.5 mg
Concentración de stock de cúrcuma	Proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución.	Se realizó un stock de cúrcuma, utilizando como solvente DMSO (250 mg/ 10 mL)	Cualitativa Politómica.	Nominal 1) Control 2) 5 mL 3) 4 mL 4) 3 mL 5) 2 mL 6) 1 MI

Diseño experimental

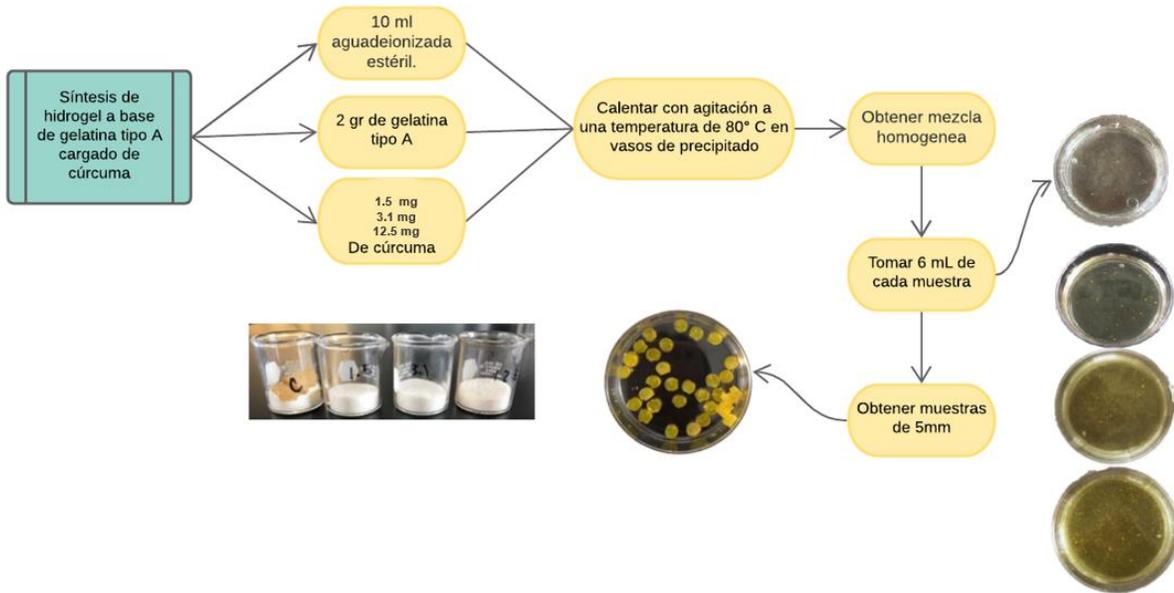


Figura. 3. Proceso de síntesis de hidrogel con cúrcuma en polvo.
Fuente propia

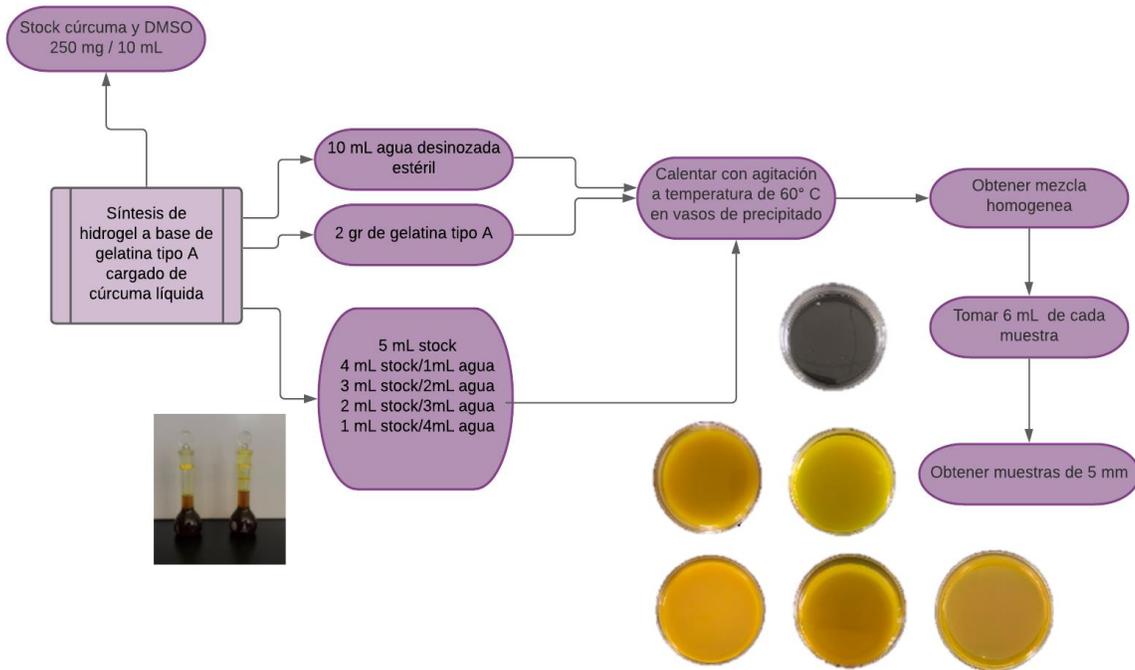
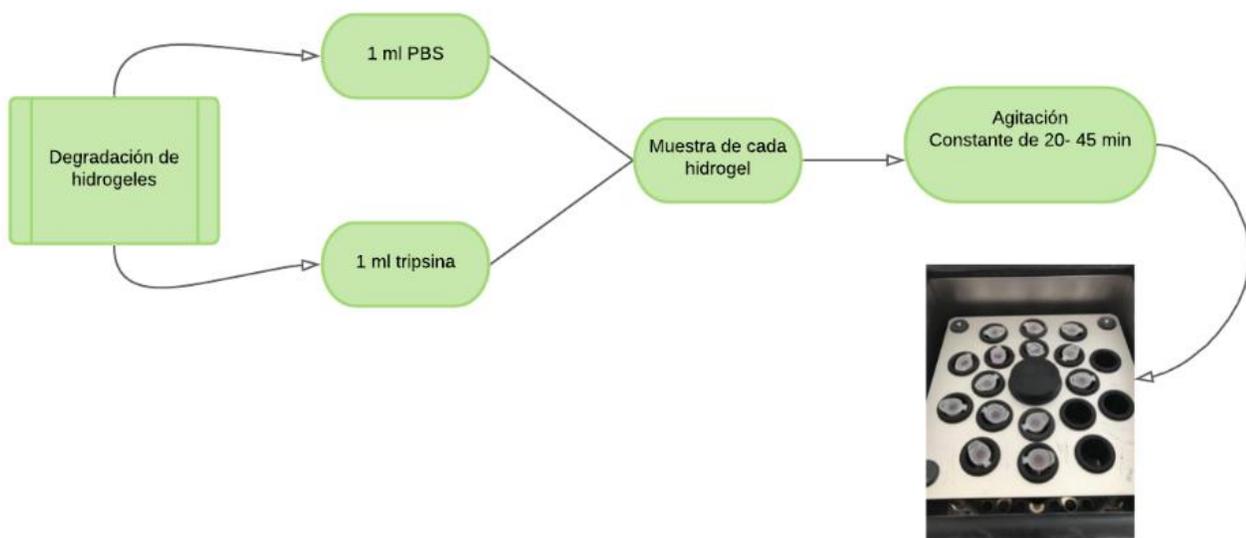


Figura. 4. Proceso de síntesis de hidrogel con cúrcuma líquida
Fuente propia

Figura. 5. Degradación enzimática e hidrolítica
Fuente propia



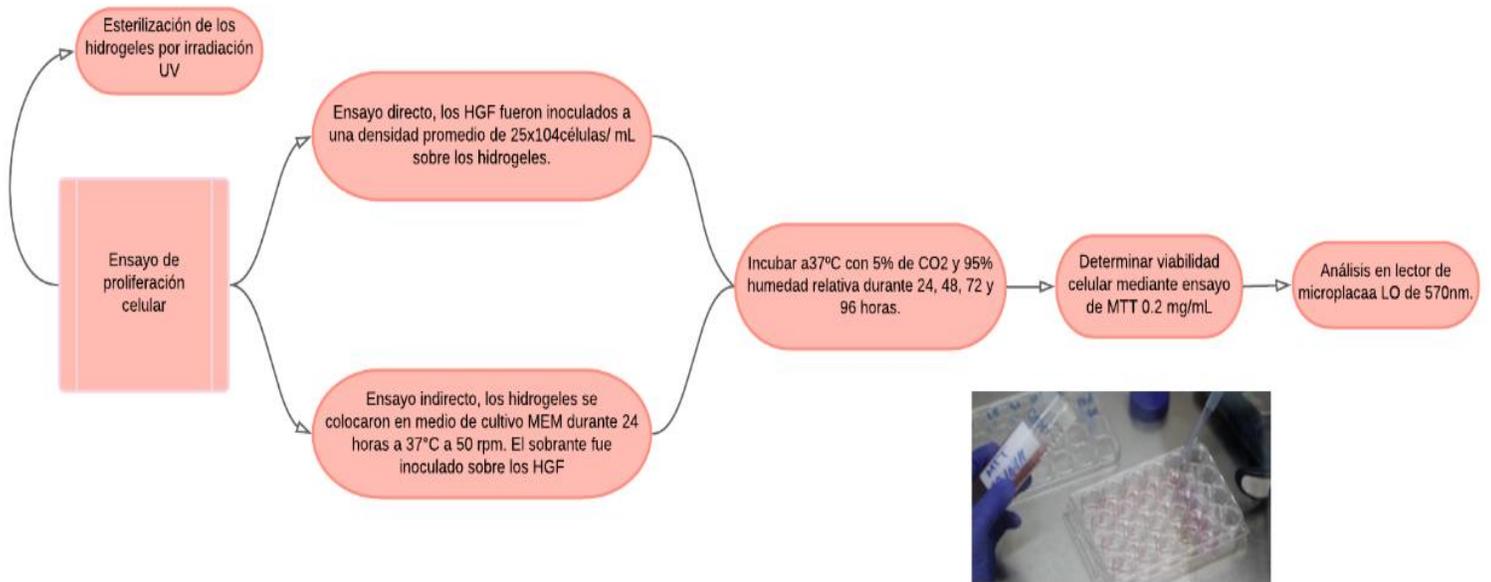


Figura. 6. Ensayo de proliferación celular directo e indirecto
Fuente propia

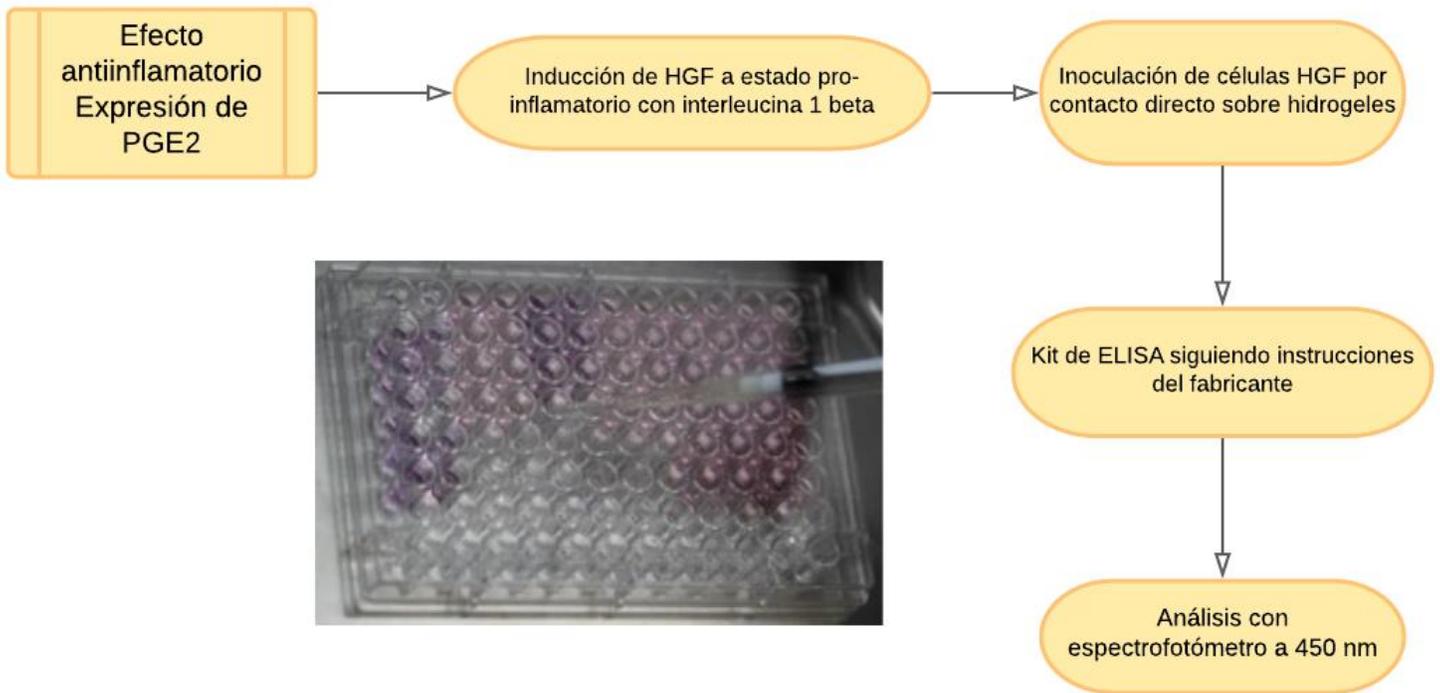


Figura. 7. Proceso para determinar efecto antiinflamatorio, expresión de PGE₂
Fuente propia

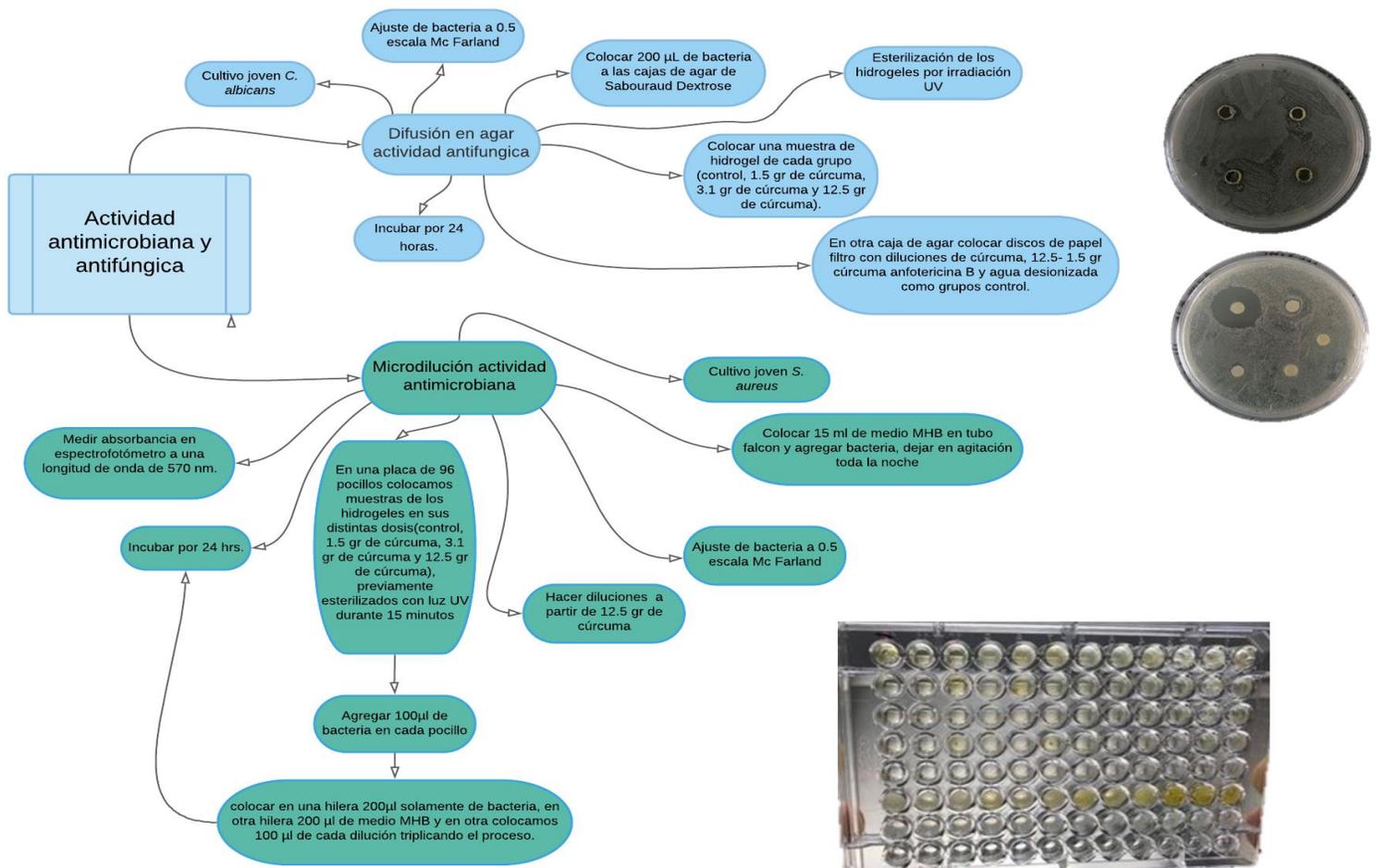


Figura. 8. Procedimiento para determinar actividad antimicrobiana y antifúngica.
Fuente propia

Materiales y método

Materiales

Equipo

Campana de flujo laminar horizontal (Lumisell^{MR} LH-120, Celaya, Guanajuato, Mexico), centrifugadora (Beckman®, J2-MC, Indianápolis, EUA), incubadora (Binder ®, Tuttlingen, Alemania), ultracongelador (Thermo Scientific®, Rochester, NY, EUA), espectrofotómetro (Thermo Scientific®, Finlandia).

Muestra

Muestras de hidrogeles a base de gelatina tipo A con cúrcuma en dosis de 12.5 mg, 3.1 mg, 1.5 mg y solo gelatina tipo A.

Muestras de hidrogeles a base de gelatina tipo A con stock de cúrcuma en dosis de 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL y 1 mL .

Instrumental

Micropipetas (Thermo Scientific®, Rochester, NY, EUA), cajas de cultivo de 10-cm y 6-cm (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA), placas de cultivo 24 y 96 pocillos (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA).

Insumos

Buffer de fosfato (PBS, Ph 7.4), medio de cultivo MEM (del *Inglés Minimun Essential Medium Eagle*, Sigma-Aldrich, ST. Missouri, USA) suplementado con 20% de suero fetal bovino estéril (FBS, Gibco®), 1% de antibiótico (10,000 UI/mL de penicilina G y 10,000 mg/mL de estreptomicina, Sigma-Aldrich) y 1% de glutamina (Glutamax, Gibco®). gelatina tipo A (Sigma-Aldrich, dimetilsulfóxido (DMSO, karal, Guanajuato, México), cúrcuma (Golden Plant´s, Estado de México, México), tripsina (Sigma-Aldrich), MTT “0.2 mg/mL,” bromuro de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolio], kit de ELISA (Enzo Life Sciences New York, USA), interleucina 1 beta (IL-1 β) (Novus Biologicals, LL, Briarwood, USA).

Implicaciones éticas

Respecto a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos y de acuerdo con los principios de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y vertidos en el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación, se contó con el consentimiento de los pacientes para la donación de sus órganos dentarios.

Esta investigación se encuentra en el esquema del Título segundo, capítulo 1, artículo 17, inciso II: Investigación con riesgo mínimo: Estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes, dientes deciduos y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, prótesis dental y cuyos datos serán vertidos en los formatos específicos. Por tratarse de una investigación con riesgo mínimo y de acuerdo con el artículo 23 del Capítulo II, donde se menciona que, en el caso de investigaciones con riesgo mínimo, la comisión de ética, por razones justificadas, podrá autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formularse por escrito y tratándose de investigaciones sin riesgo, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado.

Desarrollo de la metodología

Síntesis de hidrogel a base de gelatina tipo A cargado de cúrcuma en polvo

Para obtener una solución de gelatina al 10 % en peso utilizamos 50 mL de agua desionizada estéril en un vaso de precipitado de 50 mL (en total utilizamos 40 mL de agua desionizada estéril porque se tomará en cuenta 4 grupos), este vaso se coloca en una plancha de calentamiento con agitación a 80° C. Mientras el agua se calienta, en vasos de precipitado previamente rotulados con la cantidad de cúrcuma que se utiliza (grupo control, 1.5 mg cúrcuma, 3.1 mg cúrcuma y 12.5 mg cúrcuma) (Golden Plant's, Estado de México, México) se agregó la cantidad de cúrcuma ya establecida después pesamos 2 g de gelatina tipo A (Sigma-Aldrich) los cuales colocamos en vasos de precipitado previamente rotulados (en total utilizamos 8 g de gelatina tipo A). Cuando el agua desionizada estéril alcanzo los 60 ° C de temperatura se tomaron 10 mL para agregarlos a los vasos de precipitado que ya contenían la gelatina tipo A y la cúrcuma, se mantuvieron en agitación hasta obtener una mezcla homogénea. Ya obtenida nuestra mezcla, se tomaron 6 mL de cada muestra, las cuales se colocaron en cajas Petri, se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posterior a esto, con ayuda de una perforadora se obtuvieron todas las muestras posibles de cada uno de los 4 grupos de hidrogel. Se colocaron en las mismas cajas de Petri y se almacenaron en refrigeración.

Síntesis de hidrogel a base de gelatina tipo A cargado de stock de cúrcuma

Como primer paso se obtuvo un stock, donde se disolvió la cúrcuma en dimetilsulfóxido (250 mg/10 mL) en un matraz aforado de 25 mL, después de filtró con ayuda de papel filtro y se reservó. Colocamos 70 mL de agua desionizada estéril en un vaso de precipitado, el cual se calentó a una temperatura de 60 ° C. Mientras el agua se calienta, en vasos de precipitado previamente rotulados con las cantidades de stock de cúrcuma a utilizar (grupo control, 5 mL, 4 mL, 3 mL, 2 mL y 1 mL) agregamos 2 g de gelatina tipo A a cada vaso, se agregaron 10 mL de agua desionizada estéril, se colocaron en la plancha de calentamiento manteniendo agitación constante, al obtener una mezcla homogénea se agregó el stock de cúrcuma manteniendo en agitación, posterior a esto se tomaron 6 mL de cada muestra, los cuales se colocaron en cajas de Petri, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y cuando ya tenían consistencia firme se llevaron al refrigerador para que mantuvieran su consistencia. Con ayuda de una perforadora se obtuvieron muestras de cada grupo y se colocaron en las mismas cajas de Petri.

Degradación enzimática e hidrolítica del hidrogel

Las pruebas de degradación se llevaron a cabo colocando una muestra de cada hidrogel en tubos de eppendorf tanto en tripsina al 0.005% (1 mL, Gibco®) y PBS (1mL), respectivamente, se mantuvieron en agitación constante en un tiempo de 20-45 min a 50 rpm y 37°C. Se tomó el sobrenadante y se analizó en espectrofotómetro (Thermo Scientific®, Finlandia) a una longitud de onda 390 nm.

Cultivo celular

Se utilizaron fibroblastos gingivales humanos (HGF, del inglés *Human Gingival Fibroblast*) obtenidos de un cultivo celular primario. Durante una cirugía de tercer molar, se obtuvo una biopsia de tejido gingival de un paciente de 21 años, quien firmó, previamente, su consentimiento informado, el protocolo fue avalado por el comité interno de bioética de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES), Unidad León (UNAM) con el número de registro CE_16/004_SN. Todo el procedimiento se realizó dentro del banco de flujo laminar (Lumistell®, Celaya Gto, México) y consistió en realizar explantes, aproximadamente 1x1 mm, con una hoja de bisturí N° 20 sobre un portaobjetos de vidrio estéril. Los explantes fueron inoculados en placas de cultivo estériles de 10 cm (Thermo Fisher Scientific, Rochester, NY, EE. UU.) y cultivados con medio de cultivo MEM (del Inglés *Minimum Essential Medium Eagle*) suplementado con 20 % de suero fetal bovino estéril (FBS, Gibco®), 1 % de antibiótico (10,000 UI/mL de penicilina G y 10,000 mg/mL de estreptomina, Sigma-Aldrich) y 1 % de glutamina (Glutamax, Gibco®). Los platos fueron incubados a 37 °C con 5 % de CO₂ y 95 % humedad relativa (Binder, Tuttlingen, Alemania) durante 3 semanas hasta que se obtuvo una monocapa celular del 80 %. El medio de cultivo fue sustituido cada tercer día después de la primera semana. Los subcultivos celulares se realizaron lavando tres veces con solución buffer de fosfato (PBS, 5 mL) y se añadió 1 mL de tripsina, EDTA-2Na al 0,05 % (Sigma-Aldrich) y se incubó durante 5 min a 37° C y se realizó el pase celular a un nuevo plato de cultivo

Ensayo de proliferación celular

Los hidrogeles fueron esterilizados por irradiación ultravioleta (Tipo UV-C, Germicidal T8, General Electric, Massachusetts, EUA) a una longitud de onda de 253.7 nm (52 µW/cm²) durante 20 min. Los ensayos se realizaron por contacto directo, donde, los HGF fueron inoculados a una densidad promedio de 25x10⁴ cél/mL sobre los hidrogeles a diferentes concentraciones, mientras que el contacto indirecto consistió en agitar los hidrogeles en medio de cultivo MEM durante 24 h a 37°C a 50 rpm, el sobrenadante resultante fue inoculado en conjunto con los HGF en platos de cultivo de 96 pocillos. Las muestras de contacto directo e indirecto fueron incubados a 37°C con 5 % de CO₂ y 95 % humedad relativa durante 24, 48, 72 y 96 h. Posterior a dicho periodo, el número relativo de células viables se determinó mediante el método MTT [“0.2 mg/mL,”- bromuro de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) - 2,5-difeniltetrazolio]. El formazán fue disuelto con dimetilsulfóxido y analizado en un lector de microplaca (MultiSkan Go, Thermo Scientific Fisher, Finlandia) a una longitud de onda de 570 nm.

Efecto antiinflamatorio (Expresión de PGE₂)

Para la detección de PGE₂ se utilizó un kit de ELISA (Enzo Life Sciences New York, USA). La inoculación de las células se realizó como se reportó anteriormente por contacto directo sobre los hidrogeles. El contacto de HGF se realizó durante 24 h, se utilizó la interleucina 1 beta (IL-1 β) (Novus Biologicals, LL, Briarwood, USA) para inducir un estado pro-inflamatorio (3 ng/mL) previo a la inoculación de los HGF durante 3 h como control positivo y las células sin exposición a hidrogeles ni a la IL-1 β se utilizaron como control negativo. Los sobrenadantes de las muestras fueron colectados para evaluar la cantidad producida de PGE₂ y se siguió el protocolo descrito por el fabricante para la ejecución del ensayo. La expresión de la proteína PGE₂ fue determinada a 405 nm en el espectrofotómetro de microplaca.

Susceptibilidad antimicrobiana y antifúngica

Difusión en agar

Para evaluar la actividad antimicrobiana y antifúngica de los hidrogeles con cúrcuma se utilizó *S. aureus* y *C. albicans*.

Primero se hizo agar Mueller Hinton (Becton Dickinson de México, Cuamatla, Cuatitlan Izcalli, Estado de México, México) para cultivo bacteriano y agar Sabouraud Dextrose (Oxoid™, United Kingdom) para cultivo fúngico. Se colocaron 20 mL de cada agar en cajas de petri de 10 cm para obtener cultivo joven de *S. aureus* y *C. albicans*.

En tubos de ensayo de vidrio se colocaron 10 mL de cloruro de sodio al 0.08 % y se colocaron de 3 a 5 colonias de *S. aureus* y *C. albicans* en su respectivo tubo, los tubos se colocaron en vortex durante 10 segundos, luego se llevó al densitómetro, el cual marcó una densidad de 0.5 en escala MC Farland.

A los platos con agar Mueller Hinton (Becton Dickinson de México, Cuamatla, Cuatitlan Izcalli, Estado de México, México) y Sabouraud Dextrose (Oxoid™) se colocaron 200 μ L de bacteria tomados de cada tubo de ensayo.

En un plato con agar Mueller Hinton (Becton Dickinson de México, Cuamatla, Cuatitlan Izcalli, Estado de México, México) y Sabouraud Dextrose (Oxoid™) se colocó una muestra de hidrogel de cada grupo (control, 1.5, 3.1 y 12.5 mg de cúrcuma) respectivamente. En otro plato se colocaron discos de papel filtro con diluciones de cúrcuma de los grupos ya mencionados, clorhexidina (control positivo) para *S. aureus* y anfotericina B para *C. albicans* y agua desionizada como grupos control e incubados por 24 horas.

El efecto antimicrobiano y antifúngico se evaluó midiendo el diámetro de las zonas de inhibición producido por los hidrogeles.

Microdilución

Se hizo agar Mueller Hinton (Becton Dickinson de México, Cuamatla, Cuatitlan Izcalli, Estado de México, México) para cultivo bacteriano y agar Dextrosa Sabouraud (Oxoid™, United Kingdom) para

cultivo fúngico. Se colocaron 20 mL de cada agar en cajas de petri de 10 cm para obtener cultivo joven de *S. aureus* y *C. albicans*.

Se elaboraron 300 mL de caldo de agar Mueller Hinton Broth y 300 mL de caldo de agar Dextrosa Sabouraud Después se colocaron 15 mL de medio MHB y SDB en tubos falcón de 50 ml agregando de 5 a 6 colonias de *S. aureus* y *C. albicans* del cultivo joven, respectivamente. Se dejan en agitación constante durante la noche, posterior a esto en un tubo de ensayo de cristal se colocaron 7 mL de medio MHB y en otro tubo medio SDB, verificando que en el densitómetro nos marcara 0, luego se agregaron aproximadamente 780 µL de la bacteria que se obtuvo de la agitación, se ajustó su densidad a 0.5 MC Farland. Para obtener la concentración de trabajo, en otro tubo falcon de 50 mL colocamos 30 mL de medio MHB y SDB agregamos 30 µL de la bacteria previamente ajustada. Previamente se realizó un stock compuesto por 750 gr de cúrcuma y 30 mL de dimetilsulfóxido con el cual se realizaron hidrogeles, en proporciones que se muestran en la figura 9, obteniendo una mezcla homogénea.

Proporciones de stock de cúrcuma e hidrogel		
Stock (mL)	Gelatina tipo A (mL)	Agua (mL)
5	5	0
4	5	1
3	5	2
2	5	3
1	5	4
0	6	0

Figura. 9. Proporciones de stock, gelatina tipo A y agua que se utilizaron para elaborar los hidrogeles.

Se tomaron 6 mL de cada mezcla y se colocó en cajas de Petri y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se obtuvieron muestras de 5 mm de cada mezcla.

En una placa de 96 pocillos colocamos muestras de los hidrogeles en sus distintas concentraciones (control, 5, 4, 3, 2,1 mL), se agregaron 100 µL de bacteria en cada pocillo. Se colocaron controles positivos y negativos, cada dilución fue probada con 100 µL de la solución de trabajo, respectivamente, triplicando el proceso. Se dejaron en incubadora durante 24 h.

Pasando este tiempo, se llevó a cabo la medición de la absorbancia en espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nm para *S. aureus* y 625 nm para *C. albicans*.

Conteo de colonias

Se realizaron diluciones seriadas de cada grupo, colocando 900 µL de medio MHB y SDB en tubos de eppendorf. Se toman 100 µL de cada tubo. Se dejan en agitación constante toda la noche a 50 rpm y 37° C. En cajas de agar MH Y SD de 60x15 mm se colocaron 15 µL de cada dilución y se esparció sobre el agar. Se dejaron en incubación 24 h y se realizó conteo de colonias.

Análisis estadístico y representación de datos

El ensayo se realizó por triplicado de tres experimentos independientes ($n=9$). Se calcularon porcentajes, promedio y desviación estándar. Los datos obtenidos fueron analizados con pruebas de normalidad Shapiro-Wilks y pruebas de ANOVA post hoc de Turkey en el paquete estadístico SPSS (Statistical Packegen for Social Science, Chicago, IL, EUA)

La significancia estadística fue fijada con un valor de $p<0.05$. Los datos fueron representados con gráficas de polígonos de frecuencias.

CAPÍTULO 4

Resultados

Degradación del hidrogel

El hidrogel a base cúrcuma tuvo como tiempo de degradación a las pruebas sometidas tanto en tripsina como en un medio de PBS de 30 y 45 min, respectivamente, hasta su degradación total respectivamente. En la degradación enzimática se pierde el 100 % de peso del hidrogel, mientras que en la hidrolítica se pierde el 90 %. La figura 10 A y B muestra los resultados de degradación.

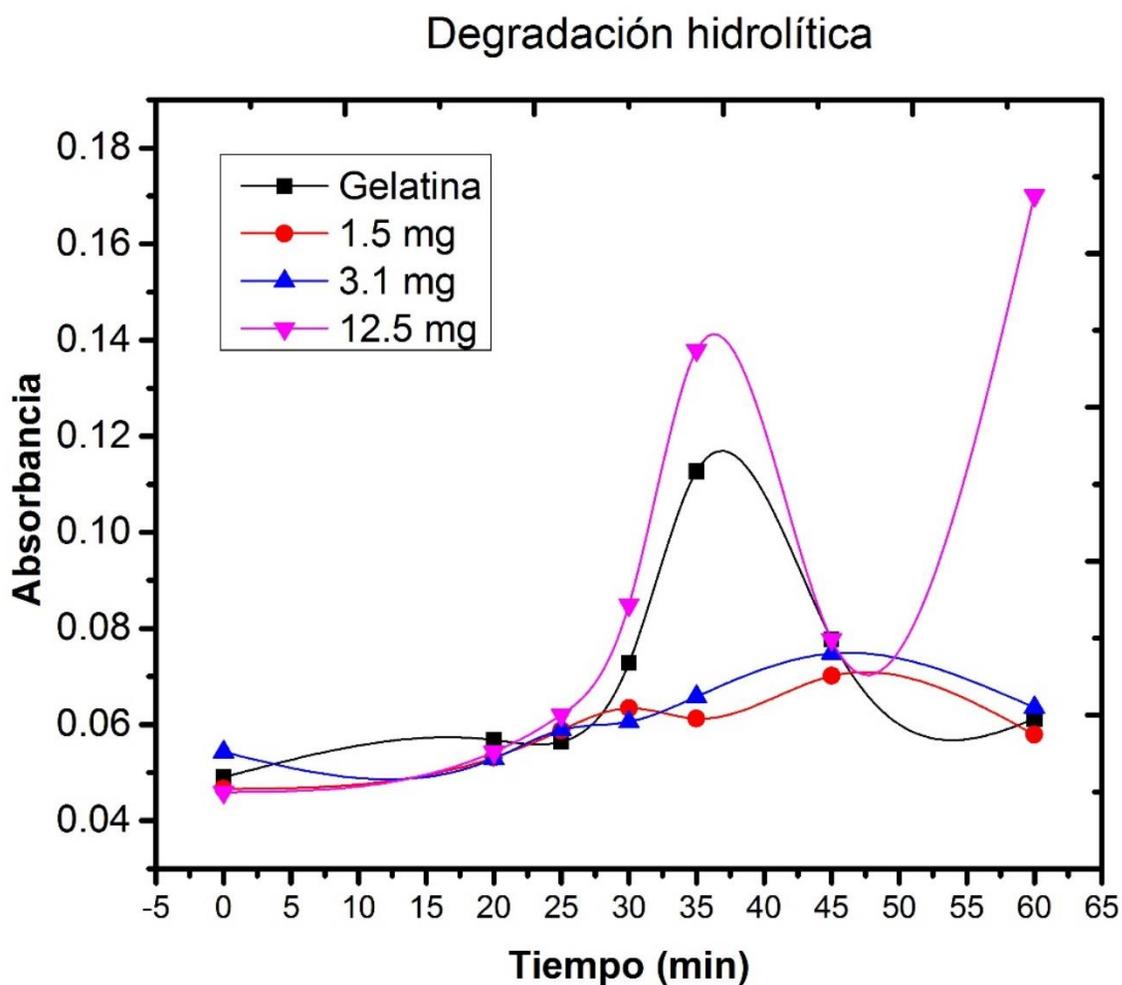


Figura.10-A. Degradación hidrolítica en medio de PBS.

Degradación enzimática

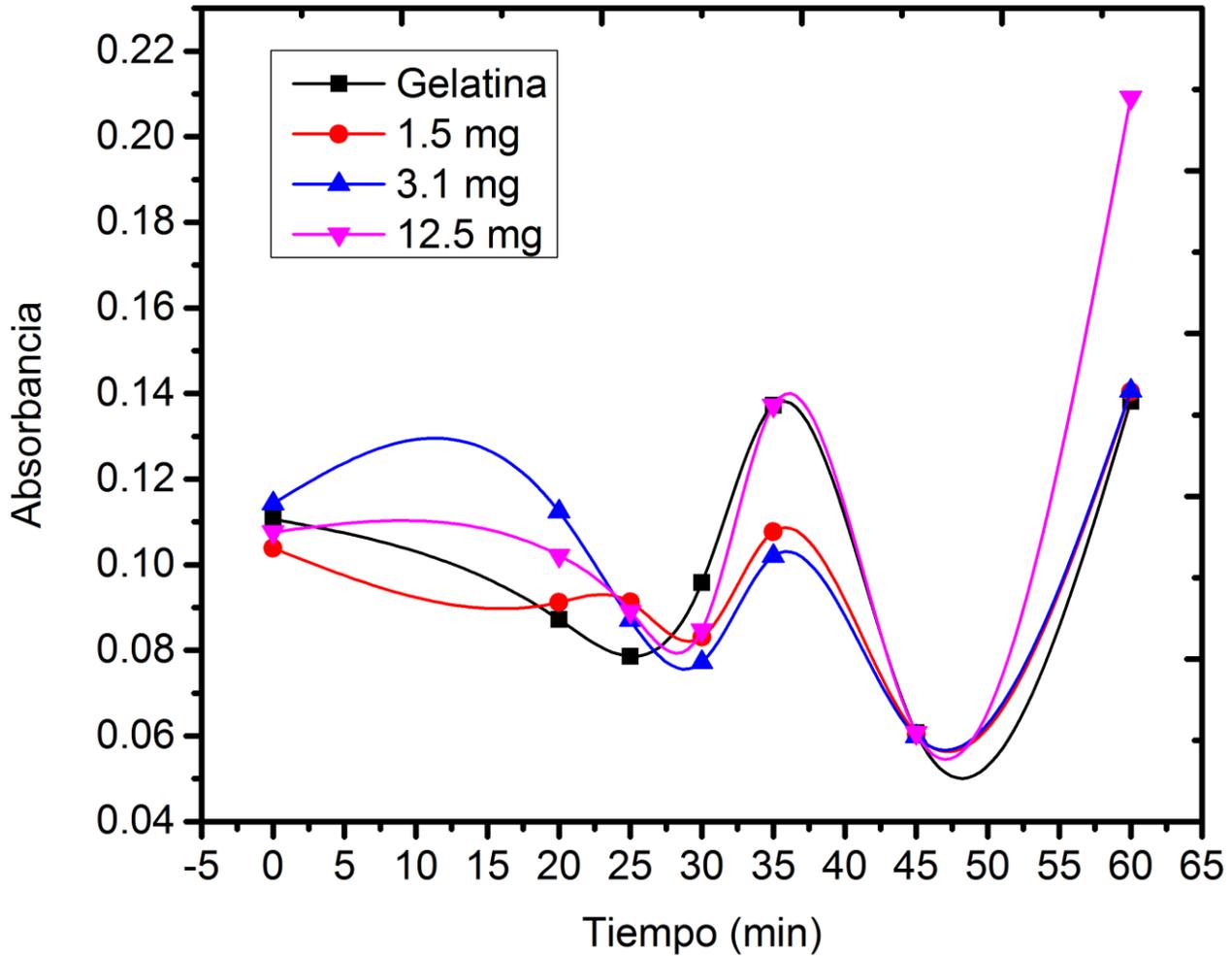


Figura.10-B. Degradación enzimática en medio de tripsina.

Proliferación celular

La viabilidad celular de HGF a 24, 48, 72 y 96 h se observó una ligera reducción en la proliferación celular de forma dosis dependiente como lo muestra la figura 11 A, B y C ($p < 0.05$) independientemente del método directo o indirecto, sin importar en que presentación se encuentre la cúrcuma, no se mostró alteración por la presencia de los hidrogeles a base de

cúrcuma determinados como no citotóxicos ($87.03 \pm 1.16\%$) independientemente de la dosis de cúrcuma con base a la norma ISO 10993-5:2009.

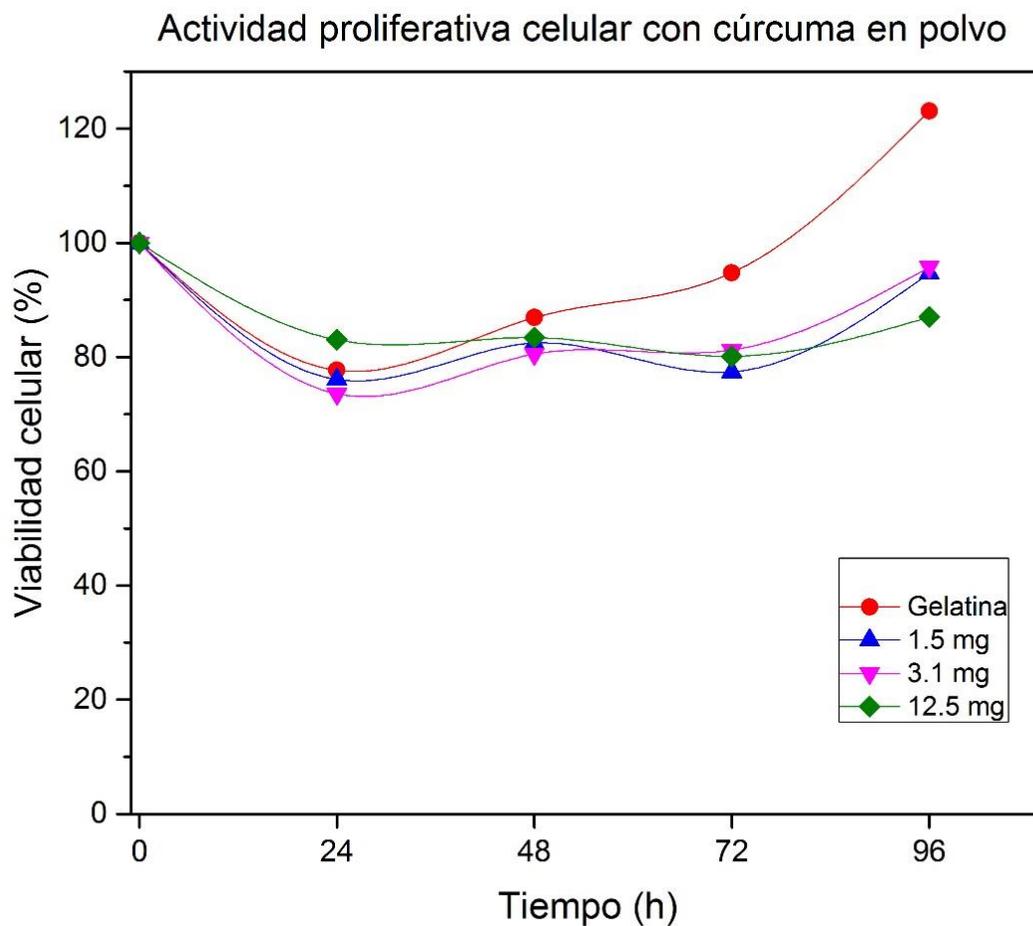


Figura. 11-A. Actividad proliferativa celular ensayo directo con cúrcuma en polvo

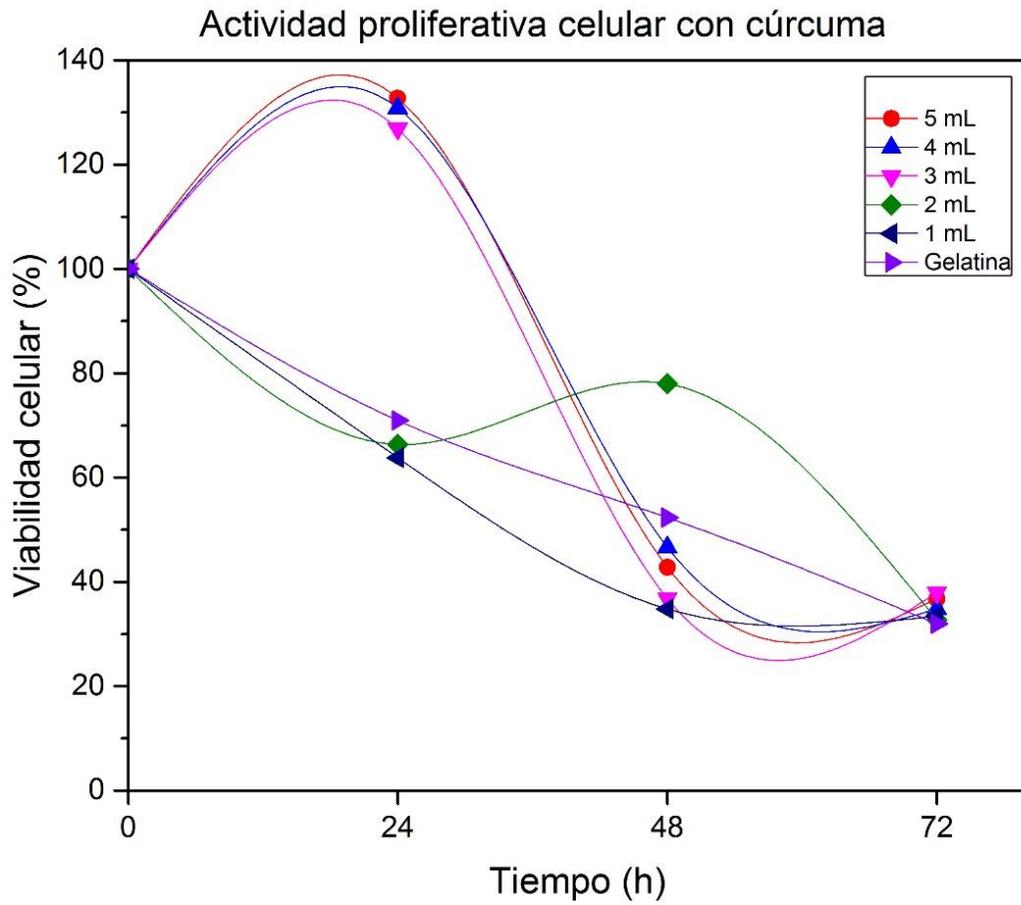


Figura. 11-B. Actividad proliferativa celular ensayo directo con cúrcuma líquida

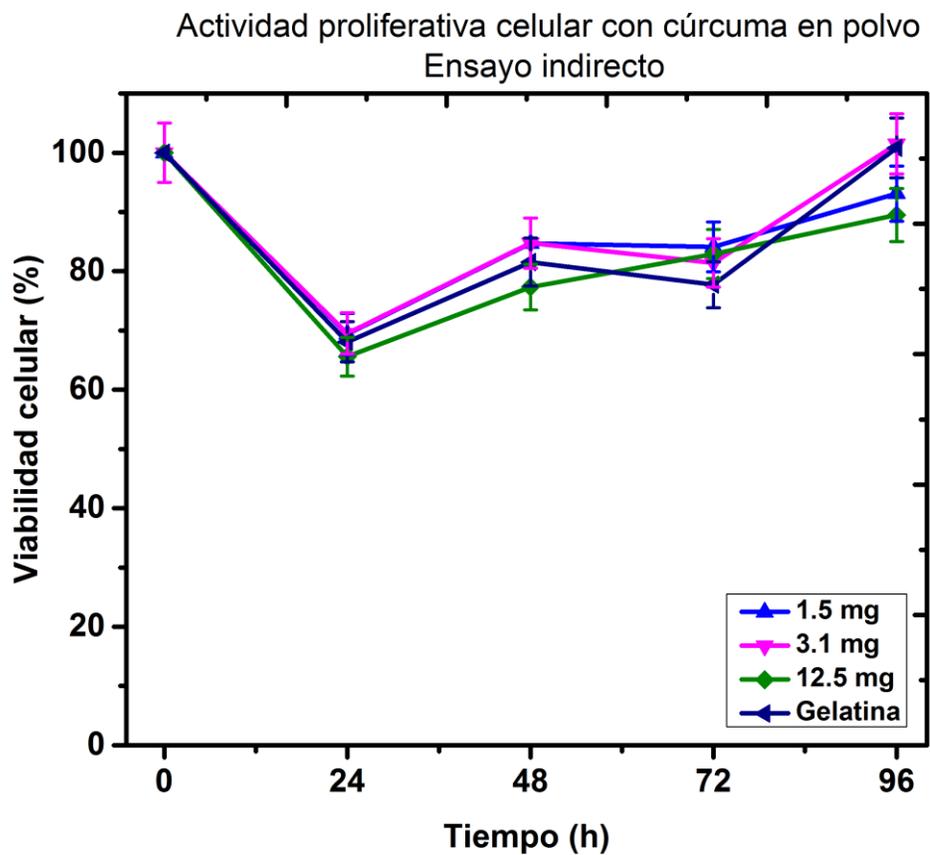


Figura.11-C. Actividad proliferativa celular ensayo indirecto con cúrcuma en polvo.

Efecto antiinflamatorio

La figura 12 muestra la expresión de PGE₂ dentro de la cual se observó una significativa reducción de la detección de la proteína de forma dosis dependiente ($p < 0.05$), siendo el grupo con mayor dosis de cúrcuma con el mejor efecto antiinflamatorio.

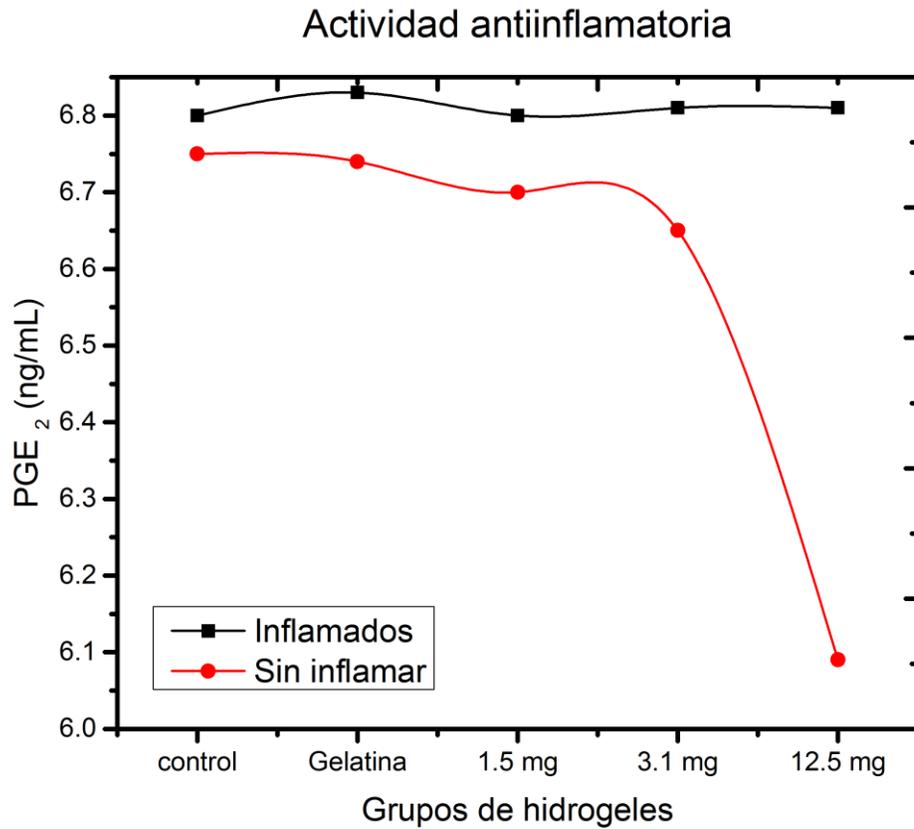


Figura.12. Actividad antiinflamatoria que producen los hidrogeles en células inducidas a inflamación.

Susceptibilidad antibacteriana y antifúngica

En el ensayo de difusión en agar para *S. aureus* se observó un halo de inhibición, cuya longitud fue de 0.24 cm. Mientras que para *C. albicans* no se observó ningún cambio como se puede apreciar en las figuras 13 A y 13 B.

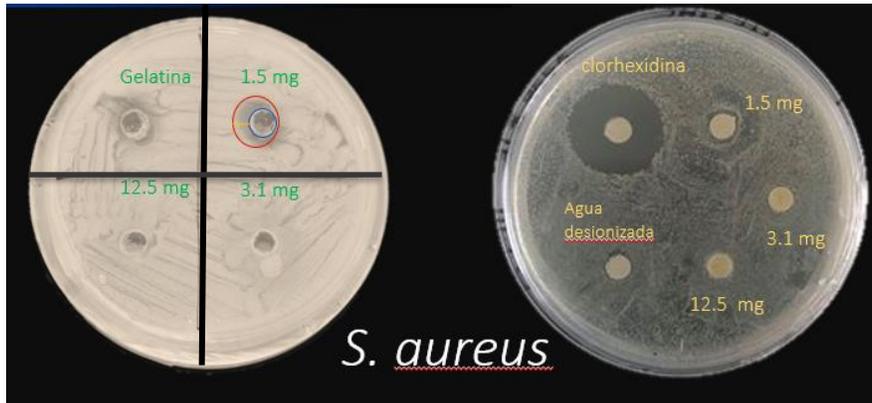


Figura.13-A. Difusión en agar *S. aureus* en presencia de hidrogeles con cúrcuma en distintas concentraciones

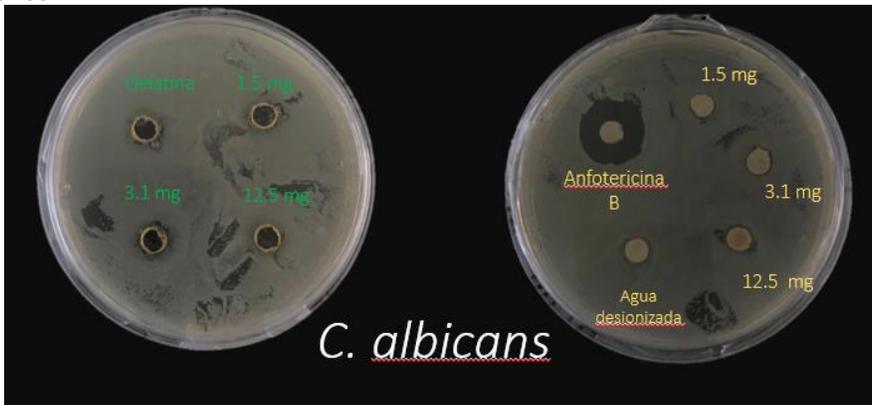


Figura.13-B. Difusión en agar de *C. albicans* en presencia de hidrogeles con cúrcuma en distintas concentraciones

Con el ensayo de microdilución y conteo de colonias se observó que, si existe un efecto bactericida de los hidrogeles contra *S. aureus* de manera dosis dependiente, respecto a nuestro grupo control que solo es gelatina, como lo muestra la figura 14.

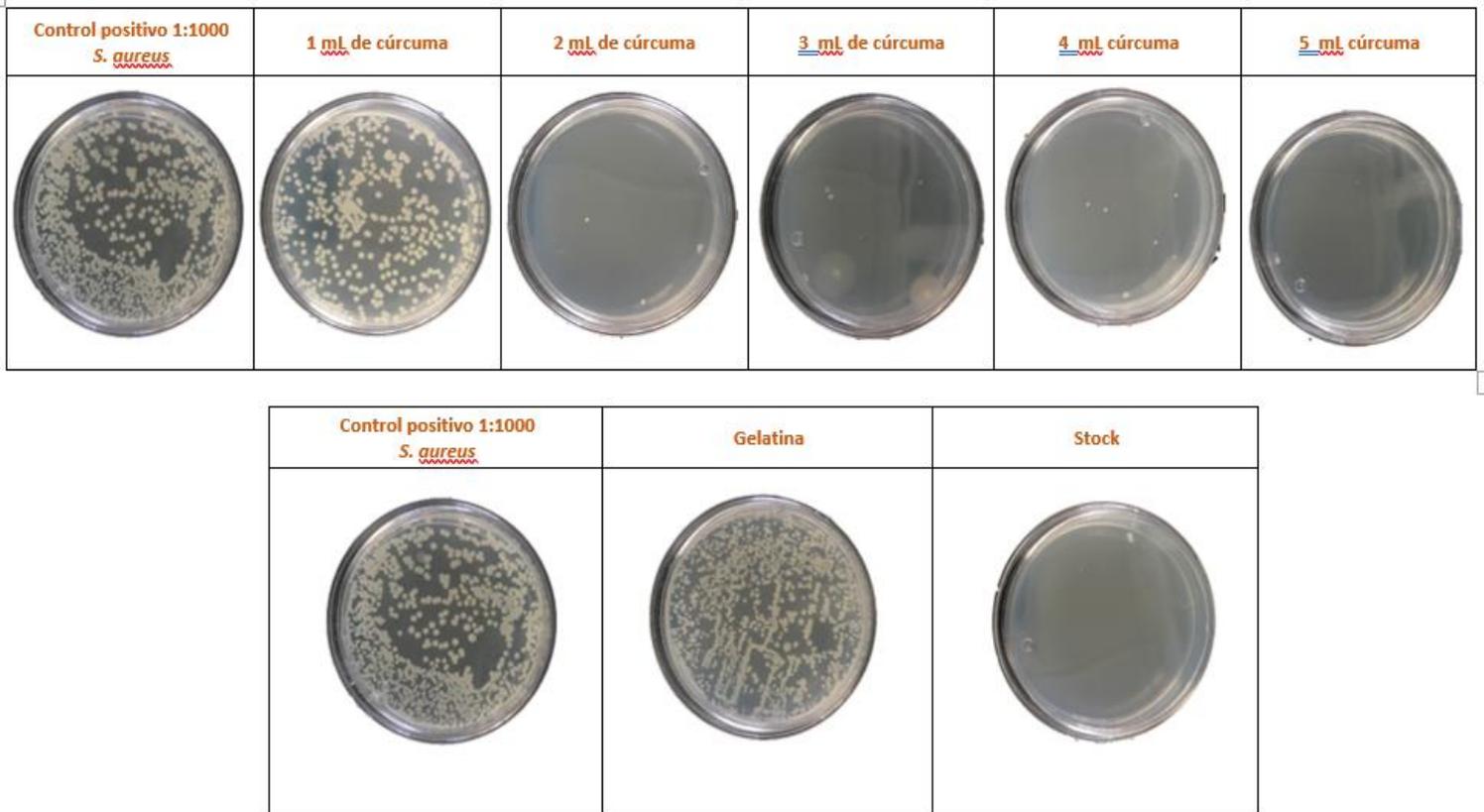


Figura.14. Conteo de colonias *S. aureus*. Dilución 1:1000

En la figura 15 también se observa que los hidrogeles con cúrcuma son antifúngicos contra *C. albicans* de manera dosis dependientes.

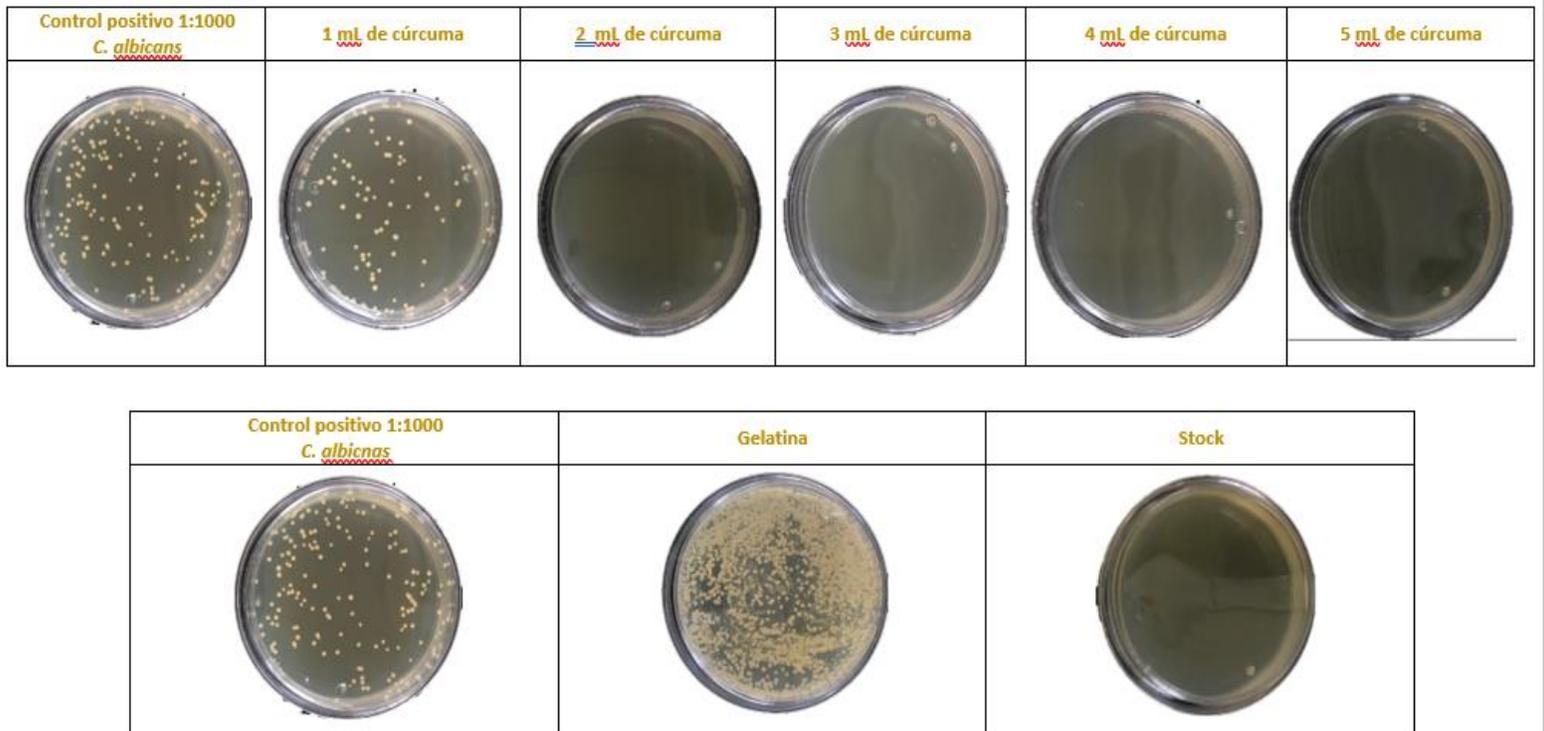


Figura.15. Conteo de colonias *C. albicans*. Dilución 1:1000

Discusión

En el presente estudio se evaluó la bioactividad de un hidrogel hecho a base de gelatina tipo A cargado con cúrcuma, no existe suficiente evidencia científica sobre un hidrogel con las características que se manejaron en este estudio.

Una de las características de la cúrcuma es su baja solubilidad en agua, por lo que después de revisar la literatura se decidió realizar dos tipos de hidrogeles, uno con cúrcuma en polvo y otro con un stock de cúrcuma utilizando DMSO como solvente, debido a las propiedades terapéuticas de posee.

Respecto al tiempo de degradación que obtuvimos es inferior al que ofrecen otros materiales utilizados como vehículo para la administración de fármacos, como lo mencionan Cid y col., en un estudio *in vitro* realizado con hidrogeles de quitosan, en el cual demostraron que la degradación enzimática es aproximadamente de 3 h y su retención es debido a la mucoadhesividad del polímero. En cuanto al tiempo de degradación de la cúrcuma, Wang y col. encontraron que el 90% de la cúrcuma se degrada en 30 min en un medio de PBS, siendo más estable en un medio de cultivo celular, donde en 1h se degradará menos del 20 % y transcurridas 8 h será aproximadamente un 50 %.³⁷ Esto puede representar una limitación para el uso terapéutico de cúrcuma porque se necesita que el tiempo de biodisponibilidad sea al menos de 48 h para lograr obtener un efecto.

Karen y Col., mencionan en su estudio, que la cúrcuma en cultivos orales con HGF mostró una citotoxicidad moderada con efecto antiinflamatorio, en un modelo de gingivitis humana.³⁸

De acuerdo a nuestro ensayo de proliferación celular, se encontró coincidencia en que las células HGF no se ven afectadas ante la presencia del hidrogel con cúrcuma, lo que demuestra que no son citotóxicos en ninguna de las dosis evaluadas.

Wolfgang W.Q en 2008, en un ensayo con células HeLa observó que no hubo diferencia para inhibir la proliferación celular al usar cúrcuma en polvo o disuelta en DMSO,³⁹ lo que coincide con este estudio que no se observó una diferencia significativa al usar cualquiera de ambas presentaciones. De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestros grupos controles, donde solo se usó gelatina tipo A se observó que hubo proliferación celular, esto nos indica que la gelatina tiene propiedades favorecen a este proceso, convirtiéndolo en un excelente vehículo para administración de la cúrcuma.

En 1974 J. Lutomski y col. en su estudio *in vitro* demostraron que, a concentraciones bajas, tanto de polvo de cúrcuma como del extracto alcohólico inhiben la mayoría de los microorganismos. Mun y col. mostraron que las concentraciones inhibitorias mínimas, pueden causar inhibición del *S. aureus*. En este estudio se coincide, porque los parámetros de las dosis utilizadas son bajas sin importar en qué estado se encuentre la cúrcuma.

En otros estudios realizados se encontró que el extracto alcohólico tuvo mejores resultados en la inhibición de *S. aureus* y *C. albicans* debido al proceso que se llevó a cabo para su obtención,⁴⁰ hay que tomar en cuenta que la cúrcuma no se disuelve en agua, pero si en alcohol, lo que puede potencializar sus propiedades, pero comprometiendo su efecto citotóxico.

En este caso, podemos observar que al usar DMSO se potencializó el efecto antibacteriano y antifúngico de la cúrcuma.

La hipótesis planteada es aceptada ya que el hidrogel con cúrcuma reaccionó de manera biocompatible sobre las células gingivales (HGF) independientemente de si la cúrcuma se utiliza en polvo o su extracto, también se observó que tiene un efecto antiinflamatorio importante a una dosis de 12.5 mg de cúrcuma y antimicrobiano en una dosis de 1.5 mg de cúrcuma en polvo, sin embargo, no se observó un efecto antifúngico utilizándose en polvo y esto puede deberse a que las dosis que se manejaron son muy bajas para tratar *C. albicans*. Mientras que al utilizarse el stock encontramos que, a dosis de 2-5 mL son más efectivas como antimicrobiano y antifúngico.

En el presente estudio, hubo algunas limitaciones debido a que se desconoce con exactitud la dosis en que la cúrcuma es efectiva para el propósito planteado, además, tampoco se encontraron reportes acerca de hidrogeles hechos a base de gelatina tipo A, la mayoría están hechos a partir de otros polímeros como el quitosan.

En este tenor de ideas, sería interesante hacer un hidrogel que este reforzado con algún otro polímero para alargar el tiempo de degradación y mejorar sus propiedades para su adherencia.

Todo esto con la finalidad de crear un hidrogel con cúrcuma que pueda ser usado como apósito postquirúrgico y que las propiedades de la cúrcuma sean aprovechadas al máximo.

Desde un punto de vista clínico podemos agregar que el uso de compuestos naturales es benéfico debido al bajo costo de los insumos, los efectos adversos son limitados y se les considera altamente eficaces. Ayudando a disminuir el consumo de medicamentos administrados por vía oral.

Las potenciales aplicaciones de productos naturales en área de odontología podrían ser como analgésico, antiinflamatorio, antiséptico, convirtiéndose en grandes coadyuvantes, ayudando a mejorar la salud oral de nuestros pacientes.

Conclusiones

Del presente estudio podemos concluir que:

El protocolo que se siguió para realizar este hidrogel con cúrcuma experimental fue satisfactorio porque se encontró que la formulación no es citotóxica para las células gingivales (HGF) independientemente de la dosis y de la presentación, por lo tanto, el hidrogel tiene alto grado de biocompatibilidad.

La degradación de los hidrogeles a base de cúrcuma en promedio es transcurridos 40 min, sin embargo, este tiempo es muy corto para su uso como apósito postquirúrgico. Para futuras investigaciones se sugiere que a esta fórmula se le agregue otro polímero el cual ayude a retardar el tiempo de degradación además de que se pueda mejorar sus propiedades mecánicas.

En cuanto a su efecto antiinflamatorio se obtuvo un buen resultado, observándose que la respuesta es dosis dependiente, por lo tanto, el grupo de 12.5 mg de cúrcuma es el que brinda mejor efecto respecto a los otros grupos.

El efecto antimicrobiano contra *S.aureus* lo encontramos a una dosis de 1.5 mg en polvo y a partir de 2 mL en líquido.

El ensayo de difusión en agar se llevó acabo para identificar si existía efecto antifúngico de los hidrogeles con cúrcuma contra *C. albicans*, en el cual se pudo observar que no existían zonas de inhibición en ninguna de las dosis utilizadas, mientras que al usarse en forma líquida hubo efecto a partir de los 2 mL.

Se logro obtener un hidrogel a base cúrcuma que para ser un ensayo experimental tuvo buenos resultados en los experimentos *in vitro*, esto nos indica que este hidrogel puede contribuir a la cicatrización de heridas, a desinflamar y prevenir infecciones posteriores a un proceso quirúrgico.

Referencias

- 1.- Gómez Zaldívar, F.-J. (2020). *Desarrollo y caracterización de un hidrogel a base de elastina y polivinilpirrolidona k30 mediante irradiación gamma para acelerar el proceso de reparación de heridas*. (Tesis de pregrado). UNAM, Ciudad de México. <http://132.248.9.195/ptd2020/febrero/0800915/Index.html>
- 2.- Barbara Bernal, J.-I. (2019) *Síntesis y caracterización de un hidrogel de polietilenglicol*. (Tesis de maestría). UNAM, Ciudad de México. http://132.248.9.41:8880/jspui/handle/DGB_UNAM/TES01000789933
- 3.- Kamoun, E. A., Kenawy, E.-R. S., & Chen, X. (2017). A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of Advanced Research*, 8(3), 217-233. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>
- 4.- Ortiz Lucio, E., Antonio Cruz, R.- C., Cruz Gómez, J., Mendoza Martínez, A.-M., & Morales Cepeda, A.-B. (2006). *Síntesis y caracterización de hidrogeles obtenidos a partir de acrilamida y metilcelulosa*. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Volumen 7(4), <http://www.ehu.eus>.
- 5.- Barbara Bernal, J.-I. (2019) *Síntesis y caracterización de un hidrogel de polietilenglicol*. (Tesis de maestría). UNAM, Ciudad de México. http://132.248.9.41:8880/jspui/handle/DGB_UNAM/TES01000789933
- 6.- Drury, J. L., & Mooney, D. J. (2003). Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 24(24), 4337-4351. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00340-5](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00340-5)
- 7.- Akhtar, M. F., Hanif, M., & Ranjha, N. M. (2016). Methods of synthesis of hydrogels ... A review. *Saudi pharmaceutical journal* : 24(5), 554–559. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.022>
- 8.- Escobar J.L., García D.M., Zaldívar D., Katime I. (2002) Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3(3), 1-25.
- 9.- Karim, A. A., & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 563-576. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>
- 10.- Claaßen, C., Sewald, L., Tovar, G., & Borchers, K. (2017). Controlled Release of Vascular Endothelial Growth Factor from Heparin-Functionalized Gelatin Type A and Albumin Hydrogels. *Gels*, 3(4), 35. <https://doi.org/10.3390/gels3040035>
- 11.- Cebi, N., Durak, M. Z., Toker, O. S., Sagdic, O., & Arici, M. (2016). An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*, 190, 1109-1115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.065>

- 12.- Fonkwe, L. G., Narsimhan, G., & Cha, A. S. (2003). Characterization of gelation time and texture of gelatin and gelatin–polysaccharide mixed gels. *Food Hydrocolloids*, 17(6), 871-883. [https://doi.org/10.1016/s0268-005x\(03\)00108-5](https://doi.org/10.1016/s0268-005x(03)00108-5)
- 13.- Nakajima N, Hashimoto S, Sato H, Takahashi K, Nagoya T, Kamimura K, Tsuchiya A, Yokoyama J, Sato Y, Wakatsuki H, Miyata M, Akashi Y, Tanaka R, Matsuda K, Tabata Y, Terai S. (2019) Efficacy of gelatin hydrogels incorporating triamcinolone acetonide for prevention of fibrosis in a mouse model. *Regen Ther.* 10;11:41-46. doi: 10.1016/j.reth.2019.04.001.
- 14.- Moniruzzaman, M., & Min, T. (2020). Curcumin, Curcumin Nanoparticles and Curcumin Nanospheres: A Review on Their Pharmacodynamics Based on Monogastric Farm Animal, Poultry and Fish Nutrition. *Pharmaceutics*, 12(5), 447. doi:10.3390/pharmaceutics12050447
- 15.- Chainani-Wu, N. (2003). Safety and Anti-Inflammatory Activity of Curcumin: A Component of Tumeric (*Curcuma longa*). *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(1), 161-168. <https://doi.org/10.1089/107555303321223035>
- 16.- Prasad, S., Gupta, S. C., Tyagi, A. K., & Aggarwal, B. B. (2014). Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnology Advances*, 32(6), 1053-1064. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.04.004>
- 17.- Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: A Review of its effects on human health. *Foods* (Basel, Switzerland), 6(10), 92. <https://doi.org/10.3390/foods6100092>
- 18.- Sharma, V., & Kalsi, D. (2016). Effects of topical application of *Curcuma longa* extract in the treatment of early periodontal diseases. *Indian Journal of Dental Sciences*, 8(3),118. <https://doi.org/10.4103/0976-4003.191725>
- 19.-Montes Angeles CD, Llamosas Hernandez E, Garcia Hernandez AL, Perez Martinez IO. (2016) Curcumina,una alternativa terapéutica para la clínica dental (part I):antiinflamatorio y analgésico. *ADM.*; 73:245-249.
- 20.- Nagpal, M., & Sood, S. (2013). Role of curcumin in systemic and oral health: An overview. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 4(1), 3–7. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.107253>
- 21.- Waghmare, P. F., Chaudhari, A. U., Karhadkar, V. M., & Jamkhande, A. S. (2011). Comparative evaluation of turmeric and chlorhexidine gluconate mouthwash in prevention of plaque formation and gingivitis: a clinical and microbiological study. *The journal of contemporary dental practice*, 12(4), 221–224. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1038>
- 22.- Behal, R., Mali, A. M., Gilda, S. S., & Paradkar, A. R. (2011). Evaluation of local drug-delivery system containing 2% whole turmeric gel used as an adjunct to scaling and root planing in chronic

periodontitis: A clinical and microbiological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(1), 35–38. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.82264>

23.- Suhag, A., Dixit, J., & Dhan, P. (2007). Role of curcumin as a subgingival irrigant: a pilot study. *Periodontal Practice Today*, 4(2), 115–121.

24.- Wilken, R., Veena, M. S., Wang, M. B., & Srivatsan, E. S. (2011). Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular cancer*, 10, 12. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-12>

25.- Deepa, D. A., Anita, B., & Sreelatha, K. T. (2010). Comparative study of the efficacy of curcumin and turmeric oil as chemoprotective agents in oral submucous fibrosis: A clinical and histopathological evaluation. *JIAOMR*, 22, 88-92.

26.- Chattopadhyay, Ishita; Biswas, Kaushik; Bandyopadhyay, Uday; Banerjee, Ranajit K. (2004) Turmeric and curcumin: biological actions and medicinal applications. *Current science*, 87 (1). pp. 44-53. ISSN 0011-3891

27.- Mesa M, Ramírez M, Aguilera C A, Ramírez A y Gil A. (2000). Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Cúrcuma longa* L. y de los curcuminoides. *Ars Pharmaceutica*;41(3):307-21.

28.- Méndez, A. G. (2017). *Estandarización de un método de cultivo primario de fibroblastos gingivales humanos, estudio in vitro*. (Tesis de pregrado). ENES, UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2017/junio/0760275/Index.html>

29.- Acosta Gómez, Adriana (2006). El fibroblasto: su origen, estructura, funciones y heterogeneidad dentro del periodonto. *Universitas Odontológica*, 25(57),26-33 ISSN: 0120-4319.

30.- Martínez Martínez, M., (2016). *Desarrollo Y Aplicaciones De Hidrogeles Para La Administración Y Liberación Modificada De Fármacos*. (Tesis doctoral). Universidad de Valencia.

31.- Fallah, M., Bahrami, S. H., & Ranjbar-Mohammadi, M. (2016). Fabrication and characterization of PCL/gelatin/curcumin nanofibers and their antibacterial properties. *Journal of Industrial Textiles*, 46(2), 562–577. <https://doi.org/10.1177/1528083715594978>.

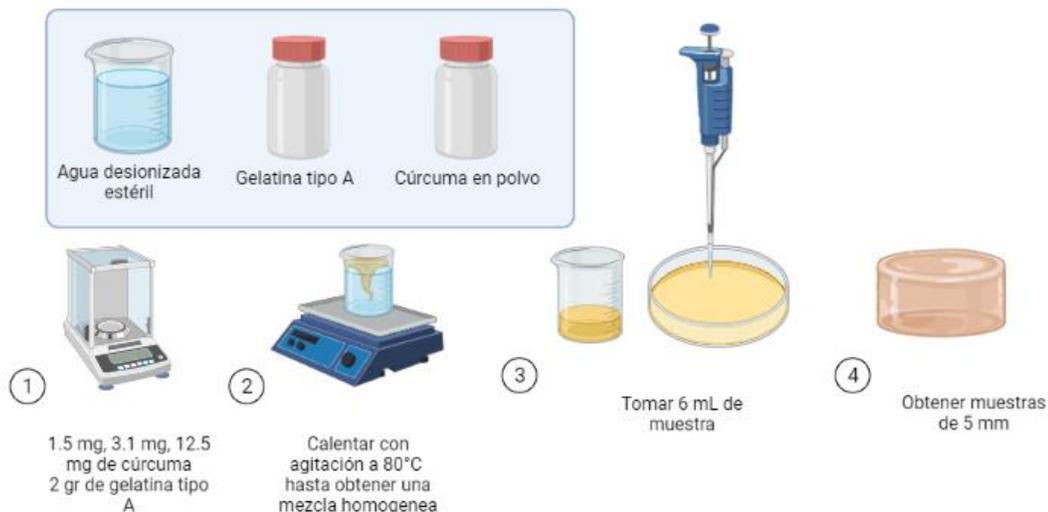
32) Masrina Mohd Nadzir, Lau Sin Mun and Chan Pei Juan. (2017). Characterization of Genipin-Crosslinked Gelatin Hydrogel Loaded with Curcumin. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, 12: 2294-2298.

33) Loan Khanh, L., Thanh Truc, N., Tan Dat, N., Thi Phuong Nghi, N., van Toi, V., Thi Thu Hoai, N., Ngoc Quyen, T., Thi Thanh Loan, T., & Thi Hiep, N. (2019). Gelatin-stabilized composites of silver nanoparticles and curcumin: characterization, antibacterial and antioxidant study. *Science and technology of advanced materials*, 20(1), 276–290. <https://doi.org/10.1080/14686996.2019.1585131>

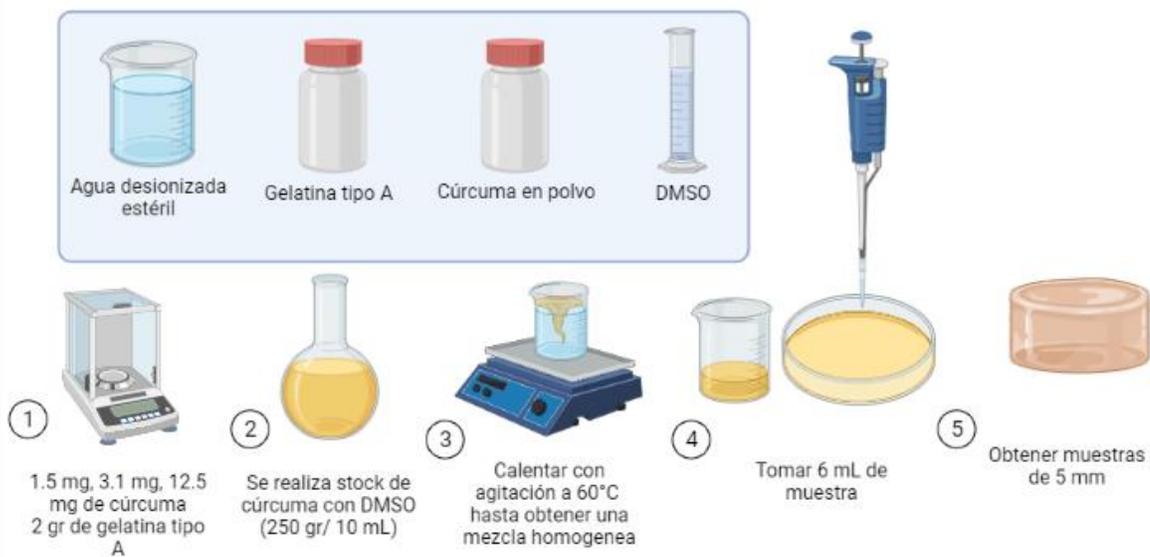
- 34) Li, X., Chen, S., Zhang, B., Li, M., Diao, K., Zhang, Z., Li, J., Xu, Y., Wang, X., & Chen, H. (2012). In situ injectable nano-composite hydrogel composed of curcumin, N,O-carboxymethyl chitosan and oxidized alginate for wound healing application. *International journal of pharmaceutics*, 437(1-2), 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.08.001>
- 35) Gong, C., Wu, Q., Wang, Y., Zhang, D., Luo, F., Zhao, X., Wei, Y., & Qian, Z. (2013). A biodegradable hydrogel system containing curcumin encapsulated in micelles for cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 34(27), 6377–6387. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.005>
- 36) Salvador, R., & Tiffer, M. J. (2002). “COMPLICACIONES POSTQUIRURGICAS DE EXTRACCIONES DENTALES EN LA CLINICA ODONTOLOGICA DE LA UAM DURANTE EL PERIODO ABRIL - DICIEMBRE 2001” (TFG). <http://biblioteca.uam.edu.ni/xmlui/bitstream/handle/721007/1195/01202094.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 37) Schneider, C., Gordon, O. N., Edwards, R. L., & Luis, P. B. (2015). Degradation of Curcumin: From Mechanism to Biological Implications. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(35), 7606–7614. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00244>
- 38) Karen Esperanza Almanza, et. al, (2020), cytotoxic and anti-inflammatory Effect of turmeric and aloe vera in a gingivitis model, *Natural Oral Care in Dental Therapy*.
- 39) Quitschke W. W. (2008). Differential solubility of curcuminoids in serum and albumin solutions: implications for analytical and therapeutic applications. *BMC biotechnology*, 8, 84. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-8-84>
- 40) Rao, N., & Mittal, S. (2014). An in vitro evaluation of the antimicrobial activity of *Curcuma longa* against selected pathogenic microorganisms. *Research Journal of Science and Technology*, 6(2), 71-74.

Anexos

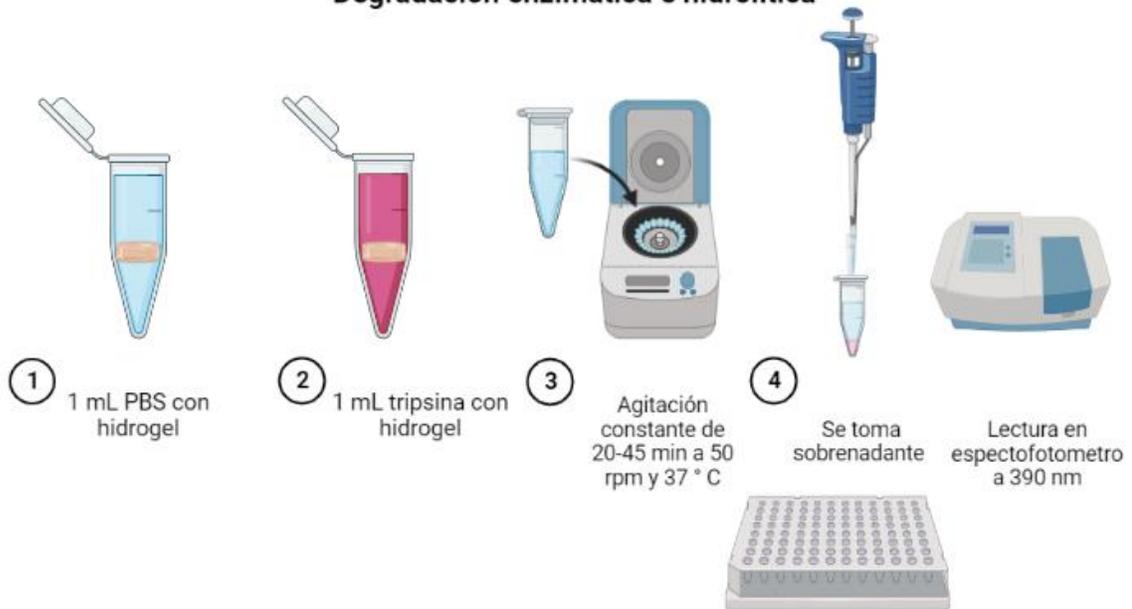
Síntesis de hidrogel a base de gelatina tipo A cargado con cúrcuma en polvo



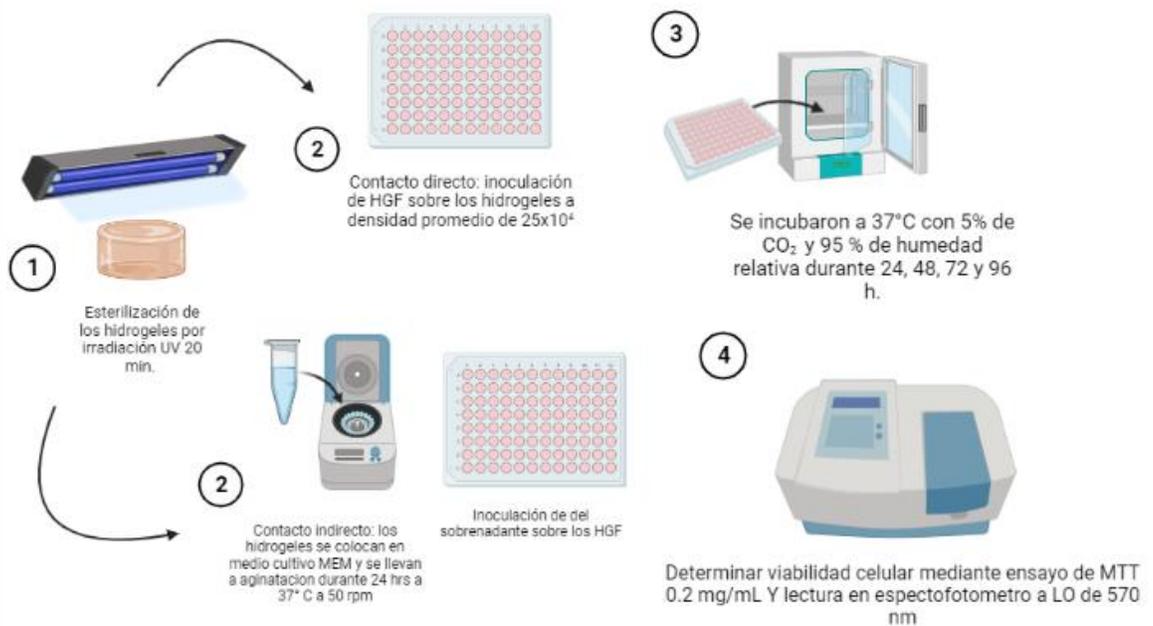
Síntesis de hidrogel a base de gelatina tipo A cargado con cúrcuma líquida



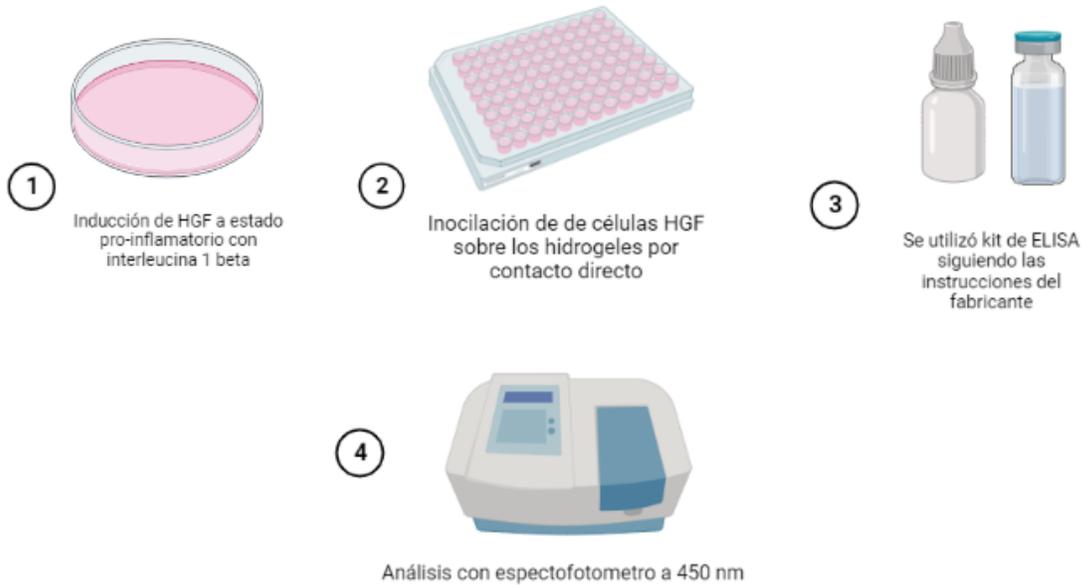
Degradación enzimática e hidrolítica



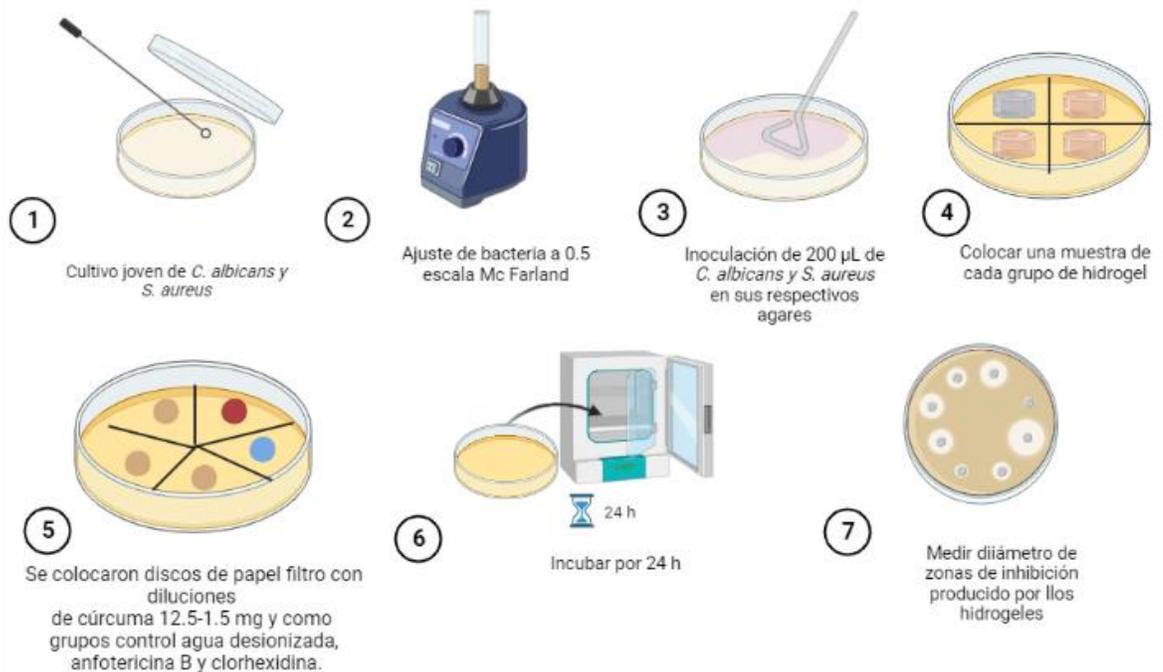
Ensayo de proliferación celular



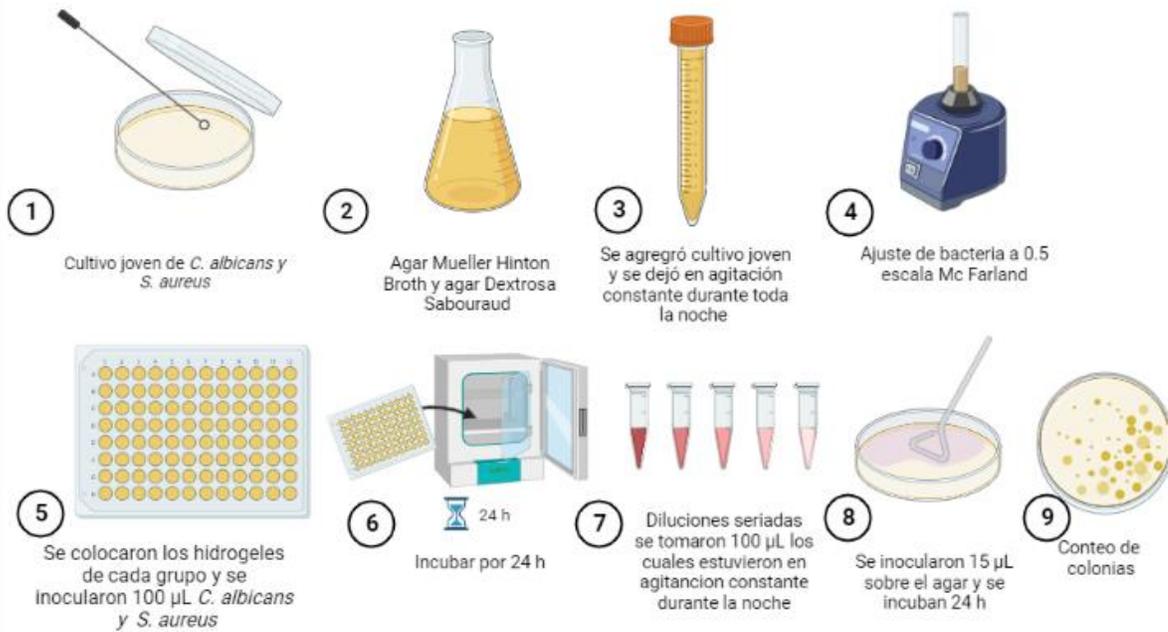
Efecto antiinflamatorio (Expresión de PGE₂)



Susceptibilidad antimicrobiana y antifúngica Difusión en agar



Susceptibilidad antimicrobiana y antifúngica (Microdilución)



Presentación oral

Escuela Nacional de Estudios Superiores

LABORATORIO DE Desarrollo de Biomateriales - y Servicios - Biotecnológicos

Campus León | División de Ciencias e Ingenierías

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A:

**Yareth Idalia Ayerim
Gutierrez Jimenez**

Por su participación en el

SIMPOSIO DE BIOMATERIALES 2020 VIRTUAL

con el trabajo:

**BIOACTIVIDAD HIDROGEL-CÚRCUMA EN CULTIVO CON
CÉLULAS ORALES PARA USO POSTQUIRÚRGICO**

realizado el 11 de noviembre de 2020

Laura Susana Acosta Torres

DRA. LAURA SUSANA ACOSTA TORRES
Directora de la ENES
Unidad León.

Birzabeth Mendoza Novelo

DR. BIRZABETH MENDOZA NOVELO
Director del Departamento de Ingenierías Química,
Electrónica y Biomedica, UG.



La Sociedad Nacional de Investigadores en
Odontología A.C. y la Universidad Autónoma
del Estado de México

A través de la
Facultad de Odontología

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO A

Yareth Idalia Ayerim Gutiérrez Jiménez, René García Contreras, Juan
Carlos Flores Arriaga, Paloma Netzayeli Serrano Díaz.

por su **presentación oral** del tema:

BIOACTIVIDAD DE HIDROGEL - CÚRCUMA EN CULTIVO CON CÉLULAS ORALES
PARA USO POSTQUIRÚRGICO

Durante el marco del XXVIII Encuentro Nacional y XIX
Iberoamericano de Investigación en Odontología.

Celebrado los días 18, 19 y 20 de noviembre de 2020.



ENIO 2020
XXVIII Encuentro Nacional y XIX Iberoamericano
de Investigación en Odontología

DRA. EN C.S. EDITH LARA CARRILLO
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE ODONTOLÓGIA

CDR. AMAURY DE JESÚS POZOS GUILLEN
PRESIDENTE DE SNIO