



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA RESPUESTA TÓPICA DEL
PROPÓLEO VERSUS BEXIDENT® ENCÍAS GEL EN EL
ENROJECIMIENTO AURICULAR INDUCIDO EN RATONES.”**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
ENDOPERIODONTOLOGÍA**

P R E S E N T A

C.D. PAMELA BALTAZAR RIOS

DIRECTOR DE TESIS: MTRO. JAVIER ANTONIO GARZÓN TRINIDAD

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉXICO, JUNIO DE 2022



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.

AGRADECIMIENTOS

Al culminar esta etapa, quiero extender un profundo agradecimiento a quienes con su amor, apoyo, paciencia y motivación hicieron posible alcanzar este logro, esta mención especial a *Dios, a mi esposo, a mis padres y a mis hermanos*. Gracias por estar presentes en cada paso que doy.

De igual forma, debo mi más sincero agradecimiento al *Mtro. Javier Antonio Garzón Trinidad* quien desde el principio me brindó su apoyo y ha compartido conmigo su conocimiento y experiencia, por ser mi guía en este trabajo y durante todo el posgrado, por ser un apoyo para mí en todo momento.

A la *Dra. Margarita Canales Martínez*, quien amablemente, una vez más, me ayudó en la realización de este trabajo, siempre con la mejor disposición; por sus enseñanzas, por brindarme y facilitarme los medios necesarios para realizar esta investigación.

Al *Dr. Marco Aurelio Rodríguez Monroy* por su apoyo al recibirme en su laboratorio y por la disposición del equipo necesario para la realización de la metodología.

A la *Mtra. Alma Nava* y al *Mtro. Octavio Canales* por su paciencia y por todo su apoyo en el laboratorio, por su tiempo para compartir sus enseñanzas, por instruirme.

Al *Esp. Juan Ángel Martínez Loza*, al *Esp. Iván García Guerrero* y a la *Esp. Ruth Saraí Gómez Ramírez*, por sus acertados comentarios, por sus consejos, por sus enseñanzas, no solo dentro de esta investigación sino durante toda la especialidad.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la FES Iztacala, a la Especialización en Endoperiodontología, por recibirme, ser mi segunda casa y por brindarme la oportunidad de crecer tanto profesional como personalmente.

A mis amigos y compañeros de la especialidad, que siempre fueron motivación e inspiración para mí.

Por último, pero no menos importante al *Esp. Abel Gómez Moreno* por ser uno de los motivos por el que hoy esté concluyendo esta etapa en mi vida, ya que él me motivó e inspiró a ingresar a este gran posgrado, junto con él se concretó la idea de este proyecto y quien estaba animoso por seguir esta línea de investigación, quien siempre me brindó su apoyo y su confianza y aunque ya no esté presente físicamente, siempre estará en nuestra mente por medio de sus enseñanzas compartidas y por los buenos momentos vividos.

ÍNDICE

GLOSARIO	6
ABREVIATURAS.....	9
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
ESTADO DEL ARTE	15
1 Proceso Inflamatorio.....	15
1.1 Inflamación en el periodonto.....	16
1.1.1 Respuesta inmune-inflamatoria del huésped	16
2 El biofilm dental	25
2.1 Características generales	25
2.2 Formación.....	26
2.3 Biofilm como factor etiológico de la enfermedad periodontal.....	28
2.3.1 Calcificación del biofilm	31
3 Importancia de la fase I para el control del biofilm.....	33
3.1 Tratamientos en Fase I.....	33
3.1.1 Control profesional	33
3.1.2 Control por parte del paciente	34
4 Control químico del biofilm.	39
4.1 Triclosán	39
4.2 Clorhexidina.....	39
4.3 Productos Naturales	41

4.3.1	<i>Aloe vera</i>	41
4.3.2	Propóleo.....	42
MATERIAL Y MÉTODOS.....		48
METODOLOGÍA		49
RESULTADOS.....		54
DISCUSIÓN		56
CONCLUSIONES.....		61
REFERENCIAS.....		62
ANEXOS		70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Complejos microbianos de Socransky</i>	30
-----------	---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Secuencia de solventes.....	51
Tabla 2.	Tren de alcoholes.	52
Tabla 3.	Grupo 1 Propóleo	54
Tabla 4.	Grupo 2 Bexident® Encias Gel	54
Tabla 5.	Grupo 3 TPA (Control)	55

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Grupos experimentales	70
Fotografía 2. Identificación de ratones	70
Fotografía 3. Muestras antes de la aplicación de TPA.....	71
Fotografía 4. Aplicación de TPA.....	71
Fotografía 5. Efecto del TPA	72
Fotografía 6. Aplicación de Propóleo- Grupo 1.	72
Fotografía 7. Aplicación de Bexident® Encias Gel - Grupo 2.....	73
Fotografía 8. Resultado Propóleo 6 hrs.....	73
Fotografía 9. Resultado Bexident® Encias Gel 6 hrs	74
Fotografía 10. TPA 6 hrs Grupo control	74
Fotografía 11. Resultado Propóleo 24 hrs.....	75
Fotografía 12. Resultado Bexident® Encias Gel 24 hrs	75
Fotografía 13. TPA 24 hrs - Grupo Control	76

GLOSARIO

A

Aerobio: Que necesita oxígeno para vivir o reproducirse.

Anaerobio: Que es capaz de vivir y reproducirse sin oxígeno.

Apicultura: Técnica que consiste en cuidar un enjambre de abejas dentro de colmenas (Abejas y la apicultura, 2017).

B

Bactericida: Que es capaz de matar bacterias.

Bacteriostático: Que impide la proliferación de bacterias.

Biofilm: Comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo (Costerton et al., 1995).

D

Disbiosis: Desequilibrio en el número o tipo de colonias microbianas.

E

Edema: Padecimiento en el cual hay acumulación de líquido en tejidos del cuerpo.

Enfermedad periodontal: Patología inflamatoria multifactorial que tiene como etiología principal las bacterias, cuyo efecto se manifiesta en los tejidos del periodonto (Lindhe, 2005).

F

Fitoquímico: Sustancia química que se encuentra en las plantas, para su defensa o crecimiento.

Fitoterapia: Es una práctica médica que utiliza preparados a base de plantas en el tratamiento y prevención de enfermedades (Díaz et al., 2018)

Flavonoide: Grupo de moléculas generadas por el metabolismo secundario de los vegetales (Lopez, 2002).

H

Homeostasis: Conjunto de fenómenos de autorregulación, que conducen al mantenimiento de la constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo.

I

Inflamación: Es la respuesta fisiológica y protectora del sistema inmunológico (Kumar et al., 2013).

M

Microbiota/Microflora: Conjunto de microorganismos que viven en equilibrio en un sitio determinado.

O

Osteoinmunología: Se encarga del estudio de las conexiones entre los sistemas inmune y esquelético (Lorenzo et al., 2011).

P

Patobionto: Organismos potencialmente patógenos. microbios comensales del ser humano que bajo la influencia de un entorno adecuado pueden producir enfermedad (Moreno et al., 2018).

Polifenol: Son compuestos hidrosolubles, y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales (Quiñones et al., 2012).

R

Ratones *Mus musculus*: Ratón casero, ratón común, especie más frecuente de ratón.
Roedor miomorfo de la familia Muridae.

S

Simbiosis: Asociación de organismos vegetales o animales de diferentes especies para favorecerse mutuamente en su desarrollo.

Sistema inmunológico: Sistema que protege de las enfermedades y proporciona resistencia a los organismos extraños (Mills, 2019).

ABREVIATURAS

ADA: Asociación Dental Americana

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

APC: Célula Presentadora de Antígeno

ATP: Adenosín Trifosfato

CAL: Nivel de Inserción Clínica

CAPE: Éster Fenetílico del Ácido Cafeico

CO₂: Dióxido de carbono

EAFP: Fracción Soluble en Acetato de Etilo

EEP: Extracto de Propóleo Chileno

EE. UU.: Estados Unidos

EPE: Extracto Etanólico de Propóleo

GC: Grupo Control

GCF: Fluido Crevicular Gingival

GM-CSF: Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-Monocitos

GP: Grupo Propóleo

Ig: Inmunoglobulina

IL: Interleucina

MAC: Complejo de Ataque de Membrana

MMP: Metaloproteinasas de Matriz

PAMPs: Patrones Moleculares Asociados a Patógenos

PG: Prostaglandina

pH: Potencial de hidrógeno

PMN: Polimorfonucleares

PPD: Profundidad de Bolsa Periodontal

RANKL: Receptor Activador for Nuclear Factor κ B Lingand

Th2: Célula T helper-2

TLR: Receptores Toll-like

TNF α : Factor de Necrosis Tumoral alfa

TPA: Activador Tisular Plasminógeno/ Acetato Tetradecanoilforbol

UFC/ml: Unidades Formadoras de Colonias/mililitros

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

RESUMEN

La cavidad oral contiene una abundante microflora y un crecimiento bacteriano excesivo que, si no se controla, puede conducir a patologías, como la enfermedad periodontal, la cual es una condición inflamatoria multifactorial, cuyo efecto se manifiesta en los tejidos del periodonto. La utilización de propóleo en estos casos puede ser favorable gracias a las diversas propiedades que tiene, ya que varios estudios han demostrado su eficacia aplicándolo en distintas regiones del organismo humano.

El objetivo de esta investigación fue comparar la respuesta tópica del propóleo versus Bexident® Encias Gel en el enrojecimiento auricular inducido en ratones. Se utilizaron 18 ratones *Mus musculus* de la cepa CD-1 machos de 4-6 semanas de edad, se provocó un edema auricular con TPA (2,5 µg) disuelto en acetona (20 µL) aplicándolo de manera tópica sobre la superficie interna y externa de su oreja derecha para inducir inflamación. Posteriormente, se formaron 3 grupos de 6 ratones cada uno; el grupo 1: conformado por 6 ratones, a los cuales se les aplicó propóleo de manera tópica en una concentración de 150 mg/kg, los primeros 3 ratones se sacrificaron a las 6 horas posteriores y los otros 3, a las 24 horas; el grupo 2: conformado por 6 ratones a los cuales se les aplicó Bexident® Encias Gel de forma tópica, fueron sacrificados de la misma forma que el grupo 1; grupo 3: Conformado por 6 ratones a los cuales solo se les realizó la aplicación del TPA, pero fueron sacrificados de la misma forma que los grupos anteriores. Los resultados arrojaron que el grupo 1 (Propóleo) en un 100% de las muestras hubo cambio de coloración tanto en ratones sacrificados a las 6 horas como en los de 24 horas; en el grupo 2 (Bexident® Encias Gel) se muestra un mayor cambio de coloración en los ratones sacrificados a las 24 horas; y en el grupo 3 (TPA) se observó en un 100% de las muestras, el enrojecimiento característico de la inflamación. En este trabajo se concluye que el propóleo es más eficaz que el Bexident ® Encias Gel, ya que se observó una respuesta más rápida en la disminución del enrojecimiento.

Palabras clave: Inflamación, Enrojecimiento, Enfermedad periodontal, Propóleo.

ABSTRACT

The oral cavity contains an abundant microflora and excessive bacterial growth that, if not controlled, can lead to pathologies, such as periodontal disease, which is a multifactorial inflammatory condition, whose effect is manifested in the tissues of the periodontium. The use of propolis in these cases can be favorable thanks to the various properties it has since several studies have shown its effectiveness by applying it to different regions of the human body.

The objective of this research was to compare the topical response of propolis versus Bexident® Encias Gel in induced auricular reddening in mice. Eighteen male *Mus musculus* mice of the CD-1 strain of 4-6 weeks of age were used, an ear edema was provoked with TPA (2.5 µg) dissolved in acetone (20 µL) applying it topically on the internal surface and outside of his right ear to induce inflammation. Subsequently, 3 groups of 6 mice each were formed; group 1: made up of 6 mice, to which propolis was applied topically at a concentration of 150 mg/kg, the first 3 mice were sacrificed 6 hours later and the other 3, 24 hours later; group 2: made up of 6 mice to which Bexident® Encias Gel was applied topically, they were sacrificed in the same way as group 1; group 3: Made up of 6 mice to which only the TPA application was applied, but they were sacrificed in the same way as the previous groups. The results showed that group 1 (Propolis) in 100% of the samples there was a color change both in mice sacrificed at 6 hours and at 24 hours; in group 2 (Bexident® Encias Gel) a greater coloration change is shown in the mice sacrificed at 24 hours; and in group 3 (TPA) the characteristic redness of inflammation was observed in 100% of the samples. In this work it is concluded that propolis is more effective than Bexident ® Encias Gel, since a faster response was observed in the reduction of redness.

Keywords: Inflammation, Redness, Periodontal disease, Propolis.

INTRODUCCIÓN

Dentro de la cavidad bucal cohabitan un sin número de bacterias, las cuales se encuentran en simbiosis, lo que permite que estén alojadas ahí sin causar algún daño; pero cuando existe una disrupción de esta, puede favorecer la aparición de diversas patologías, entre ellas la enfermedad periodontal, que, junto con la caries dental, son los padecimientos más frecuentes.

Dicha disrupción puede deberse a varias causas, pero el principal factor etiológico es la placa dentobacteriana o biofilm como se conoce actualmente, consecuencia de una mala o deficiente higiene bucal.

De ahí la importancia de mantener una higiene oral adecuada con visitas al dentista cada seis meses, de lo contrario, las patologías antes mencionadas se harán presentes; particularmente la enfermedad periodontal, que afecta los cuatro tejidos que soportan y recubren al diente, (encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar), se presenta, principalmente, en dos formas; como una gingivitis, que solo comprende la inflamación de la encía y si esta no es controlada puede evolucionar a una periodontitis, esta incluye la destrucción de los demás tejidos del periodonto, dando como resultado la pérdida de los dientes. En presencia de enfermedad periodontal, se tendrán signos clínicos comunes de la inflamación, como enrojecimiento o eritema, sangrado, agrandamiento de encía y posible sensibilidad.

Para tratar y/o controlar esta enfermedad, existen diversos tipos de tratamientos, de los cuales, la higiene bucal es el patrón de oro, su objetivo está dirigido a la eliminación del biofilm para disminuir la inflamación. Dentro de la terapéutica periodontal se incluye otorgar instrucciones suficientes y adecuadas sobre el control de placa incluyendo las visitas periódicas al dentista como los cuidados que el paciente debe tener en casa, comprendiendo una apropiada técnica de cepillado, el uso de auxiliares o coadyuvantes, como el uso de geles o enjuagues bucales.

Actualmente, en el mercado existen infinidad de productos con amplia mercadotecnia para ser consumidos por los pacientes, quienes, en ocasiones, los consumen de manera regular, incorrectamente, como substitutos del cepillado.

Dentro de esta mercancía existen particularmente algunos que se desarrollan a base de clorhexidina, como Bexident® Encías Gel, que es, posiblemente, el agente antiplaca/antigingivitis más conocido.

Sin embargo, posee efectos adversos, como la tinción de los dientes, la lengua y algunas restauraciones, la posible descamación de la mucosa oral y la alteración del sentido del gusto, que este último punto se debe tener en cuenta en estos tiempos, que debido a la Pandemia por Covid-19, podría confundirse con uno de sus síntomas, lo que harán que limitemos su uso. Aunado a todo lo anterior, debemos mencionar su alto costo.

Una alternativa para lo anterior podría ser el propóleo; su aplicación en este tipo de enfermedades orales puede ser beneficiosa para mejorar la salud bucal, ya que se sabe que posee distintas propiedades, entre ellas la antibacteriana, antiinflamatoria, antioxidante, antimicótica, entre otras (Pasupuleti et al., 2017).

Este trabajo, originalmente planteaba observar en un modelo murino, la respuesta antiinflamatoria del propóleo y posteriormente aplicarlo en pacientes, sin embargo, la pandemia ocasionada por Covid-19 (SARS-CoV-2), interrumpió la parte clínica, por lo que el objetivo de esta investigación se centró en comparar la respuesta tópica del propóleo versus Bexident® Encías Gel en el enrojecimiento auricular inducido en ratones.

ESTADO DEL ARTE

1 Proceso Inflamatorio

El cuerpo humano trabaja interminablemente para mantener el entorno interno en condiciones de homeostasis. El sistema que protege de las enfermedades y proporciona resistencia a los organismos extraños es el sistema inmunológico (Mills, 2019).

Dicho mecanismo responde a desafíos a través de una serie de procesos coordinados pero complejos que están diseñados para eliminar el agente o agentes iniciadores y devolver el sitio a un estado de homeostasis; uno de estos es la inflamación, la cual es la respuesta fisiológica y protectora del sistema inmunológico, en la que participan las células del huésped, los vasos sanguíneos, proteínas y otros mediadores, su objetivo es eliminar la causa inicial de la lesión (Kumar et al., 2013), como se menciona anteriormente.

Entre los agentes causales se encuentran los siguientes: a) físicos (calor, radiaciones etc.); b) mecánicos (aplastamiento); c) infecciosos (bacterias, hongos, parásitos y virus), d) químicos (toxinas y sustancias cáusticas) y e) inmunológicos (interacción antígeno-anticuerpo) (Méndez, 2004).

La naturaleza del agente lesivo define en gran parte las características de la evolución del proceso inflamatorio, así como su intensidad y duración lo que permite clasificarla en aguda y crónica (Kumar et al., 2010). En la fase aguda de la inflamación, la respuesta es rápida y de corta duración, si la lesión no se resuelve, la respuesta se vuelve crónica.

Por otra parte, la respuesta inflamatoria está usualmente acompañada por conocidos signos clínicos como tumefacción (edema), rubor, calor, dolor y desorden de la función tisular (Kumar et al., 2013). Todos ellos resultados de diferentes fases dentro del proceso inflamatorio.

1.1 Inflamación en el periodonto

Como se menciona anteriormente, el proceso inflamatorio responde a distintos agentes que amenazan la integridad de alguna parte del cuerpo humano; la cavidad oral es un claro ejemplo, con la presencia de la enfermedad periodontal.

Esta, una de las dos enfermedades bucales más prevalentes en la población mundial que afecta al ser humano, junto con la caries dental; es una patología inflamatoria multifactorial que tiene como etiología principal las bacterias, cuyo efecto se manifiesta en los tejidos del periodonto (conjunto de estructuras tisulares que protegen y soportan los dientes) (Lindhe, 2005), formado por encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar.

La enfermedad periodontal se presenta principalmente como dos entidades, gingivitis y periodontitis. La gingivitis, caracterizada por la inflamación de la encía sin afectación a los demás tejidos de soporte, por lo general asociada al biofilm dental y presenta una encía enrojecida, edematosa y sangrante.

El curso natural de esta enfermedad da lugar a la periodontitis. Esta se caracteriza principalmente por cambios inflamatorios de los tejidos circundantes al diente, si esta no se trata, progresa y migra la inserción de tal manera que en su forma más severa hay una pérdida masiva de las estructuras del soporte del diente que conduce a la pérdida de este (Martínez et al., 2008).

1.1.1 Respuesta inmune-inflamatoria del huésped

Como ocurre con la mayoría de las infecciones, la reacción inflamatoria dentro del tejido gingival sirve para contener o detener un ataque microbiano local y previene la propagación del organismo atacante. Sin embargo, una fuerte reacción inflamatoria también puede resultar en la destrucción de las células circundantes, la matriz del tejido conectivo y eventualmente el hueso (Mills, 2019).

Con respecto a la gingivitis, Mills (2019) resalta que las primeras evidencias visibles de que existe inflamación son en el margen gingival y ocurren en unos pocos días si el

crecimiento de la placa aumenta. En un plazo de 10 a 20 días, la masa de la placa cambia de composición, pasando de bacterias cocoides y filamentosas, en su mayoría grampositivas, a bacilos gramnegativos y espiroquetas. Una placa grampositiva generalmente se asocia con la salud periodontal, mientras que una placa gramnegativa se asocia con una enfermedad. Esta compleja comunidad de microorganismos se conoce como biopelícula. Cuando predominan los gramnegativos, estos producen y liberan una variedad de subproductos metabólicos que son tóxicos para los tejidos del huésped. Estos incluyen exotoxinas, endotoxinas, metabolitos que producen olor (Ej., sulfuro de hidrógeno) y muchas enzimas degradantes de diferentes tejidos, incluida la colagenasa bacteriana y varias proteasas, lo que puede favorecer una periodontitis.

Mills (2019) señala que “no todas las lesiones inflamatorias inducidas por placa progresan de gingivitis a periodontitis”. Una respuesta inmune protegerá al huésped al eliminar estímulos nocivos por medio de una respuesta coordinada del sistema inmune innato y adquirido. Por otro lado, las lesiones que progresan son el resultado de una mayor respuesta inflamatoria en un huésped susceptible. Esta respuesta puede estar relacionada con una variedad de factores que incluyen: 1) el tipo y la virulencia de las bacterias; 2) defectos inmunitarios del hospedador que están determinados o adquiridos genéticamente; 3) disminución de la función inmunológica resultante de afecciones relacionadas con la medicina (por ejemplo, diabetes, leucemia y enfermedades autoinmunes); 4) hábitos sociales como el abuso de drogas y alcohol y el tabaquismo; y 5) factores ambientales como estrés y exposición a toxinas (Mills, 2019).

Para entender mejor el papel del sistema inmunológico, tanto innato como adquirido, en el inicio y progresión de la enfermedad periodontal, se pueden analizar modelos de enfermedad que utilizan las cuatro etapas en la patogénesis de esta enfermedad inflamatoria descritas originalmente por Page y Schroeder, en 1976 (citado por Mills, 2019).

Lesión inicial (2-4 días)

Si se permite que se forme una biopelícula en la superficie del diente, se produce una gran cantidad de productos de células bacterianas. Muchos de estos productos y

estructuras bacterianas se conocen como Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMP) y pueden ser reconocidos por receptores de membrana celular llamados Receptores Toll-like (TLR). Los TLR son parte del sistema inmunológico innato y son expresados por varios tipos de células diferentes, incluidas células epiteliales, células endoteliales, fibroblastos, cementoblastos, osteoblastos, osteoclastos, células dendríticas, polimorfonucleares (PMN), macrófagos y linfocitos. Hay 11 TLR identificados en humanos, de los cuales TLR-2 y TLR-4 parecen ser los más importantes (Mills, 2019).

Cuando los PAMP se unen a los TLR en la membrana celular, se produce una señal molecular que lanza una de varias vías enzimáticas diferentes dentro del citoplasma de la célula. Una de estas vías eventualmente enviará una señal al núcleo de la célula para que comience la producción de ciertos tipos de moléculas llamadas citocinas. El resultado es una respuesta inflamatoria que se inicia con la liberación de estas citocinas proinflamatorias y otros mediadores solubles de la inflamación de la célula. La principal citocina proinflamatoria es la interleucina-1 ($IL\ 1\alpha$, $IL\ 1\beta$) que es liberada por varios tipos de células diferentes, incluido el epitelio sulcular y de unión, fibroblastos, macrófagos y PMN (Mills, 2019).

La liberación de IL-1 inicia una serie de eventos que generalmente se asocian con una fase inflamatoria aguda. La mayoría de los eventos descritos a continuación ocurren de manera organizada para eliminar los patógenos.

- Se liberarán citocinas quimiotácticas o quimiocinas, como IL-8, que atraen a los PMN circulantes; "la primera línea de defensa".
- Los PMN luego migran a través de la pared vascular (diapédesis) y siguen un gradiente de concentración de moléculas químicas (quimiotaxis) hasta el sitio de la infección.
- Los PMN no solo liberan enzimas que son capaces de destruir patógenos, sino que también se unen a complejos antígeno-anticuerpo para la fagocitosis. Los PMN también migrarán entre las células epiteliales de unión para llegar al surco, donde literalmente explotan y liberan sus enzimas.

- Tanto la histamina, como las cininas son liberadas de los tejidos. Los mastocitos promueven la vasodilatación y aumentan la permeabilidad vascular, mejorando la afluencia de células y moléculas de proteínas como los anticuerpos y el complemento.

Las proteínas plasmáticas llamadas Complemento se activarán a través de una cascada de reacciones enzimáticas. Hay tres vías para la activación del complemento: la clásica; Alternativa; y lectina de unión a manosa.

El complemento tiene varias funciones biológicas:

- C3a activa basófilos y mastocitos provocando la liberación de sustancias vasoactivas, incluida la histamina.
- Junto con los anticuerpos, C3b y C4b opsonizan, o agrupan, los antígenos para facilitar la fagocitosis por PMN y macrófagos.
- C5a mejora la activación de PMN y la quimiotaxis.
- C5b, C6, C7, C8 forman un complejo de ataque de membrana (MAC) que puede destruir las bacterias perforando agujeros en su pared celular.

Por otro lado, los anticuerpos que ingresan al tejido provienen de la circulación. Algunos pueden ser específicos para ciertos antígenos asociados a patógenos y provenir de las clases y subclases IgG e IgA. Otros que son menos específicos o de afinidad más débil serán de la clase IgM.

Los PMN y los fibroblastos gingivales pueden liberar enzimas llamadas metaloproteinasas de matriz o MMP. Estos incluyen colagenasa y elastasa que son capaces de romper la matriz extracelular como las fibras de colágeno (Mills, 2019).

Además, IL-1 inducirá a varios tipos de células a producir prostaglandina (PG), un subproducto de la degradación enzimática del ácido araquidónico que se encuentra en la capa lipídica de la membrana celular. Todas las células nucleadas, excepto los linfocitos, producen PG. La prostaglandina de importancia en la enfermedad periodontal es PGE2. Se ha demostrado que aumenta su concentración a medida que aumenta la gravedad de la lesión. Las funciones de PG incluyen agregación plaquetaria,

vasodilatación, vasoconstricción, quimiotaxis de PMN, aumento de la vascularización y resorción ósea.

Clínicamente, la manifestación de estos eventos da como resultado las primeras etapas de la gingivitis. Puede haber eritema leve (enrojecimiento) del tejido, sangrado al sondaje, ligero aumento de volumen gingival junto con incremento del flujo de líquido crevicular gingival. Microscópicamente, el infiltrado inflamatorio está dominado por PMN localizados principalmente alrededor de los vasos dentro del tejido conectivo, justo debajo del epitelio de unión. También se observará pérdida de algo de colágeno perivascular. Dentro de la lámina propia (capa de tejido conectivo debajo del epitelio) del epitelio sulcular, aumentará el número de células dendríticas llamadas células de Langerhans. Estas células pueden internalizar y procesar antígenos asociados a patógenos y migrar, a través de canales linfáticos, al ganglio linfático donde se convierten en células presentadoras de antígeno (APC) para convertirlas en células T vírgenes (inmaduras). El antígeno libre también puede viajar al ganglio linfático, donde los macrófagos o células dendríticas especializadas internalizan, procesan y presentan el antígeno a las células T, las cuales, recién activadas estimularán a su vez a las células B para que cambien la inmunoglobulina de IgM a IgG, IgA o IgE. La célula B también puede ser estimulada para que prolifere y se diferencie en células plasmáticas que luego producen el anticuerpo específico de antígeno que le presentó antes la célula T (Mills, 2019).

Si la respuesta inmune es eficaz para eliminar los patógenos en la fase inicial de la inflamación aguda, se generan lipoxinas de la degradación enzimática del ácido araquidónico. Las lipoxinas (A y B) pueden actuar para inhibir la quimiotaxis de los PMN, inhibir la secreción de mediadores proinflamatorios, inducir la apoptosis (muerte celular) de los PMN y reclutar macrófagos en el sitio para la eliminación de los restos celulares. Por lo tanto, la inflamación se resuelve y el tejido se repara. Otros compuestos moleculares, llamados resolvinas y protectinas, se producen a partir del metabolismo de los omega 3 de la dieta y actúan de manera similar a las lipoxinas (Mills, 2019).

Lesión temprana (4-7 días)

Si los patógenos no se han eliminado, la respuesta inmune se intensificará. Las características distintivas de la lesión inicial continuarán, pero se acentuarán. Clínicamente, puede haber más edema junto con un aumento del enrojecimiento (eritema). Microscópicamente, el área de infiltrado inflamatorio aumentará, ocupando hasta un 10-15% del tejido conectivo gingival debajo del epitelio de unión y sulcular. La pérdida de colágeno extracelular puede llegar al 60-70% y se observan cambios citopáticos en los fibroblastos gingivales. En un intento de aislar la lesión en crecimiento, las células del epitelio de unión comenzarán a proliferar en gran número (Mills, 2019).

Aunque los PMN todavía son prominentes en número, ahora se pueden ver células linfoides acumulándose debajo del epitelio de unión. Muchos de los linfocitos provienen directamente de la sangre circulante en respuesta a quimiocinas especializadas, quienes los redireccionan hacia el lugar de la lesión. Otros linfocitos comenzarán a llegar del tejido linfoide circundante. Mills (2019) señala que varios estudios han demostrado que estos pequeños linfocitos son principalmente células T. Una vez activadas por las células presentadoras de antígeno, como los macrófagos o las células dendríticas, las células T pueden funcionar como células auxiliares y / o citotóxicas que orquestan una respuesta inmunitaria adecuada. Esto se logra mediante la producción de varias citocinas o mediante la interacción de célula a célula. En una lesión de gingivitis, las células T colaboradoras aumentan la capacidad de los macrófagos para eliminar patógenos intracelulares y extracelulares, activan PMN independientemente de las citocinas producidas y potencializan la fagocitosis de PMN y macrófagos. Esta es probablemente la razón por la que las células T están relacionadas con la "lesión estable" como en la gingivitis, ya que tienden a mantener la infección bajo control (Mills, 2019).

Lesión establecida (2-3 semanas)

Si la célula T es incapaz de lidiar con la infección de manera efectiva, volviéndola crónica, es posible que se requiera una respuesta inmune más sólida. Sin embargo, persisten las manifestaciones de inflamación aguda. El infiltrado inflamatorio en la lesión establecida ocupa un área mayor dentro del tejido conectivo, con mayor destrucción de la matriz de

colágeno. Una vez más, el epitelio de unión intentará ocupar el espacio y aislar la infección migrando lateral y apicalmente, lo que dará como resultado la formación temprana de bolsas. Otro cambio significativo con respecto a las etapas iniciales de la enfermedad es el predominio de células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas (Ig) dentro del infiltrado inflamatorio. Por lo tanto, ahora se puede detectar un aumento de Ig extravasculares (anticuerpos) dentro del tejido conectivo y el epitelio de unión. Estos cambios pueden estar relacionados con uno o más eventos del sistema inmunológico (Mills, 2019).

- Las células B hayan migrado al sitio de infección en la lesión establecida. Algunas son células B de memoria que tienen inmunoglobulinas (Ig) específicas de antígeno expresadas en su membrana superficial. Las células T helper-2 activadas por macrófagos (Th2), con receptores para el mismo antígeno específico, se unirán a la célula B y la activarán. El proceso de activación da como resultado la proliferación y diferenciación en células plasmáticas productoras de Ig. Posteriormente, estarán disponibles inmunoglobulinas para opsonizar y neutralizar los antígenos. Las citocinas IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y los factores estimulantes de colonias de granulocitos-monocitos (GM-CSF), liberados por las células T, son moléculas de señalización importantes para la proliferación y diferenciación de las células B (Mills, 2019).

Lesión avanzada

Varias de las características descritas para la lesión establecida persistirán en esta etapa. Las células plasmáticas continúan siendo el tipo celular predominante dentro del infiltrado inflamatorio. Se observa una mayor destrucción del colágeno subyacente al epitelio de unión, con fibrosis en sitios distantes. Una característica principal de la lesión avanzada es la extensión de la lesión hacia el ligamento periodontal y el hueso de soporte. El resultado es la pérdida ósea que se manifiesta como pérdida de inserción clínica y formación de bolsas. Los mediadores de la inflamación que han sido identificados por desempeñar un papel importante en la resorción ósea alveolar incluyen interleucina-1 β , interleucina-6, factor de necrosis tumoral α (TNF α) y prostaglandina E2. Cada célula involucrada en la respuesta inmune es capaz de secretar estas moléculas. Además, se ha demostrado que cada uno de estos mediadores aumenta en los sitios de

periodontitis en comparación con los sitios que muestran gingivitis o salud. El área de investigación más reciente involucra al Receptor Activador for Nuclear Factor κ B Lingand (RANKL) y su receptor señuelo, la osteoprotegerina (Mills, 2019)

Osteoinmunología

La “osteoinmunología” es una de las áreas recientes de investigación científica. Se encarga del estudio de las conexiones entre los sistemas inmune y esquelético, analizando su interdependencia a nivel anatómico, vascular, celular y molecular, con énfasis en el desarrollo del conocimiento de los ligandos, receptores y moléculas de señalización intracelular que rigen estos procesos. Su campo de interés clínico es amplio y alcanza un protagonismo esencial en procesos como la artritis, enfermedad inflamatoria intestinal, osteoporosis, cáncer y enfermedad periodontal (Lorenzo et al., 2011).

El término osteoinmunología se refiere específicamente al estudio de la regulación de la osteoclastogénesis a través del RANKL, el cual se ha descrito como el "regulador de interruptor maestro" de la osteoclastogénesis. Dado que la homeostasis ósea es un equilibrio entre la formación ósea (osteoblastogénesis) y la resorción ósea (osteoclastogénesis), comprender los mecanismos reguladores entre estas fases puede proporcionar una mayor comprensión de las enfermedades óseas en las que la balanza se inclina a favor de la resorción. Dado que la periodontitis es una enfermedad inflamatoria caracterizada por la pérdida de hueso alveolar, el control de la expresión de RANKL en la lesión periodontal puede ser un enfoque de tratamiento útil (Nagasawa et al., 2007).

Los osteoblastos expresan RANKL en su membrana celular. Cuando este se une al receptor RANKL en un pre-osteoclasto, le indica a la célula que se diferencie en un osteoclasto activo. El receptor señuelo para RANKL, llamado osteoprotegerina, bloquea este mecanismo de activación, ayudando así a mantener la homeostasis ósea. En periodontitis, la proporción de RANKL a osteoprotegerina aumenta, mientras que, en salud, la proporción disminuye. Esta relación parece ser más importante para identificar los sitios de reabsorción ósea que la concentración de RANKL o de osteoprotegerina sola (Mills, 2019).

De acuerdo con Mills (2019), lo que se sabe sobre RANKL y la lesión periodontal es que:

- Los fibroblastos gingivales producen osteoprotegerina, que puede ayudar a prevenir la resorción ósea en las primeras etapas de la enfermedad periodontal, donde la lesión se limita principalmente a un área debajo del epitelio.
- Los osteoblastos y los fibroblastos del ligamento periodontal expresan RANKL en su membrana celular. Las células T no solo expresan RANKL unido a la membrana, sino que también lo secretan en forma soluble. Las citocinas proinflamatorias interleucina-1 β e interleucina-6, interleucina-11, interleucina-17, factor de necrosis tumoral- α y la prostaglandina E2 señalan a estas células que expresen RANKL unido a la membrana y a las células T que secreten RANKL. Se ha demostrado que estas moléculas están aumentadas en la lesión periodontal e indirectamente implicadas en la pérdida de hueso periodontal. Por tanto, cuando la lesión ha avanzado hacia el ligamento periodontal y el hueso alveolar, la regulación positiva de RANKL puede conducir a la pérdida ósea y la consiguiente profundización de la bolsa periodontal. En tal escenario, parece que la célula T juega un papel importante en la resorción ósea (Nagasawa et al., 2007).

El sistema inmunológico es un conjunto complejo de células y moléculas que operan de manera orquestada para proteger al huésped de microorganismos patógenos y agentes nocivos exógenos dentro de nuestro entorno. Sin embargo, la destrucción del tejido del huésped puede ocurrir si la respuesta inmune es inadecuada debido a mecanismos intrínsecos o extrínsecos en la función celular, o si existe una hiperreactividad debido a mecanismos reguladores disfuncionales. La patogenia de la enfermedad periodontal es claramente de origen inflamatorio y, como tal, tiene una estrecha asociación con el sistema inmunológico (Mills, 2019).

2 El biofilm dental

2.1 Características generales

Como se mencionó en el capítulo anterior, el principal factor etiológico de las enfermedades periodontales son las bacterias, por lo que es importante saber que la cavidad oral es un ecosistema único, que es colonizada por distintas entidades que se establecen y predominan sobre superficies particulares y varían dependiendo de las propiedades biológicas y físicas de cada sitio. Aquí, una serie diversa de organismos se puede encontrar, incluyendo bacterias, arqueas, hongos, protozoos, y posiblemente una flora viral que pueden persistir de vez en cuando. En conjunto, la microflora oral se ha denominado microbiota oral (Dewhirst et al., 2010), recordando que este último concepto nos hace referencia a microorganismos ubicados en un lugar específico, en este caso, la cavidad bucal.

Al respecto, Samaranayake y Matsubara (2017) mencionan que, aunque es, a grandes rasgos, similar en todos los humanos, cada individuo tiene una “huella digital” característica que es única, y que esta flora comensal existe en armonía simbiótica con el huésped, es decir, que existe un equilibrio entre ambos.

También se menciona que las bacterias son el grupo predominante de organismos en la cavidad oral, y es probable que haya algunas 500 a 700 especies orales comunes o filotipos y cualquier persona puede albergar desde 150 ó más especies diferentes (Lindhe et al., 2000).

Además, la boca se compone de una amplia gama de hábitats, incluyendo los dientes, surco gingival, la lengua, las mejillas, el paladar duro y blando, y las amígdalas, con las condiciones de sus propios y únicos ambientes y estos a su vez, se componen de múltiples nichos anatómicos donde las características físico-químicas, tales como el pH, el oxígeno, la temperatura, o el potencial redox, influyen en el asentamiento de microorganismos, creando así una microbiota compleja (Simón-Soro et al., 2013).

Por otra parte, la microbiota oral, puede estar presente, ya sea suspendido en la saliva como organismos planctónicos o unido a las superficies orales, como una biopelícula. Por esto, Socransky y Haffajee (2002) señalan que el término “biopelícula” (biofilm), describe una comunidad microbiana relativamente indefinible asociada a la superficie dental o cualquier otro material duro, no descamable. Su formación es un proceso complejo que comprende varias etapas.

2.2 Formación

Indican que para comenzar la formación del biofilm, este en un estado de simbiosis, las bacterias cuentan con la propiedad de adherirse a las superficies (propiedad general de casi todas las bacterias), que va a depender de distintas interacciones entre la superficie por colonizar, los microorganismos y el medio líquido (Socransky et al., 2002).

En el caso del biofilm dental, después de la inmersión de un sustrato sólido en el medio líquido de la cavidad bucal o después de la limpieza de una superficie sólida, habrá una interacción entre moléculas y células, implicadas a la adhesión del microorganismo a la superficie dental mediante “adhesinas bacterianas” (polisacáridos y proteínas localizadas en la superficie de la célula bacteriana), en conjunto con macromoléculas hidrofóbicas comienzan a absorberse a la superficie y así formando una película adecuada, conocida como “película adquirida”. Al incrementar la masa bacteriana se llevará a cabo el proceso de “agregación” refiriéndose al continuo desarrollo de los microorganismos ya adheridos y a la adhesión de nuevas bacterias (coagregación) (Socransky et al., 2002).

Es por esto por lo que la placa dental o bacteriana, representa un verdadero biofilm, conformado de bacterias dentro de una matriz compuesta principalmente por polímeros bacterianos extracelulares y productos salivales, exudados gingivales o ambos (Almaguer y Villagomez, 2017) y esta comprende aproximadamente el 30% del volumen total. La matriz no sólo da soporte a la estructura de la biopelícula, sino que actúa como una reserva de alimento, ya que retiene nutrientes, agua y enzimas y como un cemento,

tanto como para organismos entre sí y a diversas superficies de unión (Branda et al., 2004).

Conforme se desarrolla el biofilm dental, el metabolismo de los colonizadores iniciales modifica su entorno, creando una condición local que es más atractiva para los siguientes colonizadores (secundarios) y desfavorable para el grupo pionero (Marsh, 2010).

Estos cambios ambientales conducen a un reemplazo paulatino de los colonizadores iniciales a otras bacterias más adecuadas para el hábitat modificado; este proceso se denomina sucesión microbiana (1-7 días). La secuenciación agranda la diversidad de especies en el biofilm, relacionado con el crecimiento continuo de microcolonias (Samaranayake y Matsubara, 2017).

De acuerdo con Socransky y Haffajee (2005), existen dos tipos de sucesión microbiana.

1) Sucesión autógena: Se produce después de que las poblaciones residentes alteran el entorno de tal manera que son reemplazadas por especies más adecuadas para el hábitat modificado.

2) Sucesión alogénica: Un tipo de comunidad es reemplazada por otro ya que el hábitat se ve alterado por los cambios en las propiedades físicas o químicas de la región o cambios en el huésped.

Por ejemplo: El paso de estado de salud periodontal a una gingivitis. O el paso de un estado de enfermedad a uno más grave (gingivitis-periodontitis) o viceversa (periodontitis–gingivitis-sano).

Con esta sucesión ecológica de la biopelícula hay transición de un ambiente inicial aerobio con abundancia de especies Gram positivas facultativas a otro escaso de oxígeno donde predominarán microorganismos anaerobios Gram negativos. Cada uno con potencial de desplazamiento para formar nuevos nichos. Cuando el ecosistema encuentra un equilibrio adecuado, el biofilm alcanza su madurez.

Asimismo, Lindhe et al. 2000, explican que las zonas más expuestas son más abundantes en microcolonias y grupos acidófilos y aerotolerantes, mientras que, en las zonas más profundas, con condiciones reducidas o nulas de oxígeno, proliferan los anaerobios.

Al respecto, Socransky et al. 2004, mediante la técnica de checkerboard (hibridación de ADN-ADN), encontraron la relación existente entre bacterias colonizadoras de la cavidad oral, con el hábitat y periodonto y determinar cómo los cambios en el hábitat afectan la comunidad y como la comunidad afecta el hábitat.

El biofilm se encuentra en las superficies dentales, restauraciones o prótesis, especialmente en ausencia de la higiene oral. En general, se encuentra en áreas anatómicas protegidas de las defensas del huésped y la eliminación mecánica, y se describe con relación a su sitio de origen y se clasifican como supragingival y subgingival (Samaranayake y Matsubara, 2017).

2.3 Biofilm como factor etiológico de la enfermedad periodontal

Por ausencia de higiene oral el equilibrio microbiano se rompe, dando lugar a la disbiosis, y las condiciones de enfermedad aparecen; por lo tanto, los depósitos en grandes cantidades suelen estar relacionados con enfermedad tanto en los tejidos duros como blandos, desarrollando así las patologías dentales más predominantes en seres humanos, la caries y la enfermedad periodontal.

Vale la pena mencionar que los microorganismos que residen en el epitelio del surco y surco gingival juegan un papel crítico en el inicio y la propagación de enfermedades periodontales, ya que el flujo de fluido crevicular gingival (GCF) alrededor del margen gingival proporciona una fuente de nutrientes esenciales para muchos anaerobios obligados (Samaranayake y Matsubara, 2017).

Por lo anterior, Bartold y Van Dyke (2013) dicen que las enfermedades periodontales ya no pueden considerarse infecciones bacterianas simples. Más bien, son patologías

complejas de naturaleza multifactorial que involucran una interacción compleja entre la microbiota subgingival las respuestas inmunes e inflamatorias del huésped y los factores de modificación ambiental.

En 1998, Socransky y colaboradores, propusieron los “Complejos Microbianos de Socransky”, donde agruparon a las bacterias del biofilm de acuerdo con el estado del desarrollo de placa bacteriana y gravedad de la enfermedad periodontal, mediante un código de colores, como se puede ver en la figura 1.

Los complejos, amarillo (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *Streptococcus sp.* *S. gordonii*, *S. ontermedius*), verde (*E. corrodens*, *C. gingivalis*, *C. sputigena*, *C. ochracea*, *C. concisus*, *A. actino. A*) y morado (*V. párvula*, *A. odontolyticus*) junto con las especies *Actinomyces* (colonizadores primarios), especies detectadas al inicio de la formación de placa y normalmente presentes en el surco gingival de pacientes sanos, conducen a una sucesión autógena en la que los componentes del complejo naranja (*P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. micros*, *F. nuc. Vicentii*, *F. nuc. Nucleatum*, *F. nuc. Polymorphum*, *F. periodonticum*) y rojo, este último con las especies más patogénicas (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythi* y *Treponema denticola*), se vuelven más dominantes conduciendo a un cambio en el hábitat, que se manifiesta clínicamente como gingivitis y periodontitis. A este conjunto de microorganismos se le puede nombrar patobionto al ser organismos potencialmente patógenos.

La gingivitis a su vez favorece a otros miembros de la proliferación no solo de los complejos naranja y rojo; sino también a los miembros de las primeras especies colonizadoras a lo que se le da el nombre de interacción recíproca (Socransky et al., 2005).

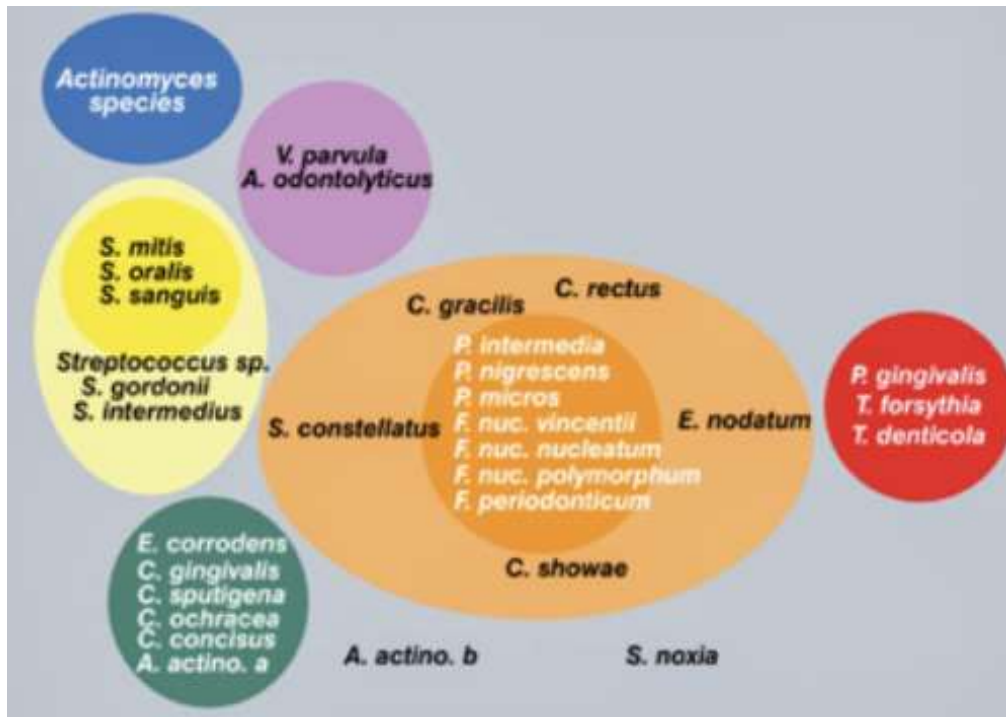


Figura 1. Complejos microbianos de Socransky

Tomado de "Microbial complexes in subgingival plaque" (p. 140) por Socransky et al., 1998, J Clin Periodontol, 25.

En consecuencia, de todo lo revisado anteriormente, podemos delimitar y relacionar con el primer capítulo, que la gingivitis es una respuesta inflamatoria de los tejidos gingivales que se produce por la acumulación de un biofilm microbiano (agente agresor) en los dientes, en el margen gingival y debajo de este (Murakami et al., 2018).

El inicio de la gingivitis se produce si la placa dental se acumula durante días o semanas sin interrupción ni eliminación, debido a una pérdida de simbiosis entre la biopelícula y la respuesta inmune-inflamatoria del huésped, y al desarrollo de una disbiosis incipiente. Clínicamente, se pueden notar síntomas que incluyen sangrado con el cepillado dental, sangre en la saliva, aumento de volumen y enrojecimiento gingival y halitosis en el caso de formas establecidas (Quirynen et al., 2009).

Con el cambio en el medio, resultado de la gingivitis, se produce un cambio en la composición microbiana, y surgen varios patógenos putativos dando paso al desarrollo de la periodontitis, lo que conduce a un daño tisular aumentado en el huésped.

La periodontitis, como resultado de la evolución de la gingivitis, es una enfermedad inflamatoria crónica asociada con un biofilm disbiótico y caracterizada por la destrucción progresiva del aparato de soporte dental, con presencia de bolsas periodontales mayores a 3 mm (Papapanou et al., 2018). Esto se debe a que el biofilm empieza a establecerse en las superficies radiculares. La colonización de estas sigue principios similares a los descritos para las superficies de esmalte. Sin embargo, el desarrollo de este biofilm en las superficies de raíz se produce más rápidamente debido a la topografía de la superficie desigual (Samaranayake y Matsubara, 2017).

Cabe recordar que, en cualquier enfermedad periodontal, el biofilm disbiótico se puede presentar en forma de una macilla o bien en forma de cálculo, o coloquialmente conocido como sarro; aunque, en la mayoría de las veces, cuando observamos una gran cantidad de este, puede estar más relacionado a problemas mayores como una periodontitis.

2.3.1 Calcificación del biofilm

El cálculo dental es una biopelícula que sufre un proceso de mineralización debido a la precipitación de sales minerales, aunque no todo el biofilm se calcifica.

Cuando se permite que el biofilm de la placa crezca sin perturbaciones, las bacterias en degeneración en una comunidad clímax pueden actuar como agentes de siembra de mineralización. Los iones de calcio y fosfato derivados de saliva y GCF pueden depositarse dentro de las capas más profundas del biofilm. La calcificación es acelerada por fosfatasas bacterianas y proteasas que degradan algunos de los inhibidores de la calcificación en la saliva (estaterina y proteínas prolinerich). Estos procesos conducen a la formación de cristales minerales insolubles que se unen para formar una masa muy calcificada, que es un contenido inorgánico que es similar al hueso, dentina y cemento (Harry y Clerehugh, 2000). Estos cristales minerales llenan los pozos y las irregularidades de la superficie del diente, siguiendo los contornos de la esmalte, cemento y dentina (Jepsen et al., 2010)

El cálculo también puede ser clasificado como supragingival, que se encuentra coronal al margen gingival, y el cálculo subgingival, situada apical a este.

Resumiendo, se puede decir que las interrelaciones entre la salud, la gingivitis y la periodontitis son complejas y dependen de un biofilm simbiótico o disbiótico y de la proporcionalidad de la respuesta inmune-inflamatoria del huésped y su capacidad para resolver la inflamación.

Dado a que la inflamación gingival se considera un requisito previo necesario para el desarrollo de una periodontitis, el tratamiento de la gingivitis es, por lo tanto, una estrategia preventiva primaria clave para detener su evolución y para erradicarla.

3 Importancia de la fase I para el control del biofilm.

El tratamiento para las enfermedades periodontales está dirigido principalmente a la reducción de los factores etiológicos para reducir o eliminar la inflamación, como, disminución de bacterias orales y depósitos asociados calcificados y no calcificados, lo que permite que los tejidos gingivales se curen, ya que se busca lograr de nuevo un equilibrio en el medio, favoreciendo la simbiosis y una vez logrado eso, mantener la armonía (Ramfjord, 1993).

Dentro de la endoperiodoncia se maneja un plan de tratamiento para estas patologías que consta de tres partes, Fase I la cual tiene como objetivo el control de placa, Fase II que comprende una fase quirúrgica y Fase III que es la etapa de mantenimiento.

3.1 Tratamientos en Fase I

La Fase I se puede considerar como base principal y crítica del tratamiento ya que será la terapéutica definitiva para los pacientes con gingivitis, y detener su avance para evitar llegar a una periodontitis. En el caso de ya estar en una periodontitis, esta fase será fundamental para preparar al paciente para el procedimiento quirúrgico.

Dentro de la fase I se encuentran tratamientos que van desde la motivación del paciente e instrucción del cepillado hasta la intervención profesional, como la eliminación de placa supra y subgingival.

3.1.1 Control profesional

Como se mencionó anteriormente, la Fase I tiene como objetivo el control de placa, y consiste en la extirpación de todos los irritantes que puedan causar inflamación gingival, al igual que en la instrucción y motivación del paciente para llegar al mismo propósito. Esta Fase consta de distintos puntos a realizar, uno de ellos es la eliminación de caries y el remodelado de restauraciones defectuosas, ya que estas deben estar bien ajustadas, contorneadas y sus superficies deben estar lisas para no retener placa.

Otro tratamiento dentro de esta fase es la eliminación supra y subgingival de cálculo, esto se realiza por medio del raspado y alisado radicular y coronal, y/o curetaje cerrado. Debemos recordar que el raspado o raspaje es la remoción de los depósitos (como el cálculo) de la superficie, tanto radicular como coronal. El alisado es, como su nombre lo indica, el alisamiento de la raíz para remover la sustancia dentaria infectada y necrótica. Y, por último, el curetaje es la eliminación de la pared gingival de una bolsa periodontal para retirar el tejido blando enfermo.

Algunos de los instrumentos para llevar a cabo estos procedimientos son:

- Escariador ultrasónico.
- Curetas: Tienen forma de cuchara y punta redondeada y son utilizadas tanto para la región supragingival como para la subgingival.
- Cinta profiláctica.

La eliminación del cálculo, en la gingivitis, suele implicar solo el raspado supragingival, ya que las superficies radiculares no están afectadas. En casos de gingivitis, donde se haya tratado previamente una periodontitis, puede haber alguna necesidad de alisado radicular. El éxito de la instrumentación se determina mediante la evaluación de los tejidos periodontales después del tratamiento y durante la fase de mantenimiento de la terapia (Academy Report, 2001).

Sin embargo, si bien en condiciones controladas es posible eliminar la mayor parte de la placa con una variedad de ayudas mecánicas de higiene bucal, muchos pacientes carecen de la motivación o la habilidad para alcanzar y mantener un estado libre de placa durante periodos de tiempo significativos (MacGregor et al., 1986). Por lo cual, como profesionales de la salud, se tiene la tarea de crear una motivación, educar al paciente para que sepa el valor y la importancia que tiene su cuidado oral personal.

3.1.2 Control por parte del paciente

A través de la motivación, por parte del profesional, hacia el paciente, y la instrucción y enseñanza de cómo lograrlo, la eliminación de la placa bacteriana y la prevención de su

acumulación en los dientes y en las superficies adyacentes, es otro tratamiento que debe llevarse a cabo dentro de la Fase I que es realizada por el paciente.

Para esta etapa del tratamiento, el paciente llegará a su objetivo por medio de un control mecánico y químico, en los cuales se demanda el uso de cepillos dentales, dentífricos, hilos dentales, cepillos interproximales, sustancias reveladoras, aparatos de irrigación bucal e inhibidores químicos, como enjuagues o geles.

Control Mecánico

Dentro de este grupo podemos encontrar como principal herramienta al cepillo dental, cepillos interdentes/interproximales e hilos dentales, por mencionar algunos.

Cepillo dental: Arteagoitia et al. (2002), hace énfasis en que el accesorio dental por excelencia es, sin duda, el cepillo de dientes. Podemos encontrar manuales y eléctricos.

Consta de 3 partes:

- Mango: debe ser adecuado a la edad y habilidades motoras del usuario, tener una anchura y longitud suficientes para manejarlo con seguridad.
- Cabeza: Aquí se insertan las cerdas. Las cerdas suaves ofrecen grandes ventajas ya que las puntas penetran con facilidad en el surco gingival (Jiménez, 2008). También deben ser con puntas pulidas y perfectamente redondeadas que ayuden a proteger dientes, y encías. Estas cerdas están dispuestas en penachos, por lo general en dos o tres hileras. La cabeza debe ser pequeña, de preferencia, para que llegue más fácilmente a zonas de difícil acceso.
- Astil: que es la unión entre el mango y la cabeza.

El cepillo se debe sustituir a los tres meses de su uso. Algunos modelos incorporan filamentos indicadores que cambian de color cuando se debe sustituir el cepillo (Arteagoitia et al., 2002).

En cuanto a los cepillos eléctricos, estos constan de un cabezal rotatorio oscilante, el cual se adapta a un dispositivo de carga de un motor y una batería. El cabezal, con cerdas agrupadas en penachos, gira a gran velocidad para eliminar la placa bacteriana.

Dependerá del modelo, pero realizan alrededor de 7600 movimientos oscilantes por minuto y de 20000 a 40000 movimientos de pulsación por minuto. El tamaño del cabezal es reducido y más pequeño en relación con los cepillos manuales y permite alcanzar los dientes posteriores. Sus filamentos deben ser suaves y redondeados (Arteagoitia et al., 2002).

Como ya sabemos, el accesorio dental por excelencia es el cepillo de dientes, pero este no llegará a tener los resultados que deseamos si no contamos con una técnica de cepillado adecuada. Existen diversas técnicas dirigidas para cada necesidad y cada paciente.

Cuando una enfermedad periodontal está presente, debemos tener en cuenta y recordar que existen bacterias tanto supragingivales como subgingivales (surco gingival) y el objetivo para combatir las es su remoción, debido a esto debemos buscar una técnica que cumpla con esos requisitos y nos ayude a la limpieza de ambas áreas.

Las técnicas de cepillado dento-gingival son: Técnica de Bass, Stillman modificado y Charters. Para la realización de estas técnicas se guía al paciente a dividir la boca en zonas o sectores: del canino hacia atrás, de canino a canino y de canino hacia atrás del lado contrario, tanto en maxilar superior como en inferior.

Para la técnica de Bass se recomienda un cepillo de cerdas suaves para evitar, primero, la abrasión de la estructura dental dura, y segundo, la lesión de la encía marginal por trauma (Patil et al., 2014). La técnica consiste en que el cepillo se coloca en un ángulo de 45 grados con respecto al eje longitudinal del diente (teniendo en cuenta que las cerdas van hacia la parte apical del diente); los filamentos del cepillo se introducen en los nichos interdentales y el surco gingival, al estar ahí se realizan pequeños movimientos vibratorios y después un movimiento de barrido hacia oclusal (Dyer et al., 2000).

La técnica de cepillado de Stillman modificada es igual a la técnica de Bass, pero los filamentos se colocan 2 mm por encima del margen gingival, es decir, encima de la encía

adherida. Se realiza a presión hasta observar la palidez de los márgenes gingivales, la vibración se mantiene por 15 segundos por cada dos dientes y al finalizarla se realiza movimiento hacia oclusal de barrido (Dyer et al., 2000).

La técnica vibratoria de Charters tiene como objetivo la eliminación de la placa interproximal. Para realizarla, se debe ubicar el cepillo formando un ángulo de 45 grados con respecto al eje dental pero dirigido hacia el borde incisal, y se presiona ligeramente para que los filamentos penetren en el espacio interdental. Se realizan movimientos vibratorios que producen un masaje en las encías (Dyer et al., 2000).

La descripción anterior acerca de las técnicas de cepillado indica que hay una para la situación clínica que presente cada paciente, pero más que determinar cuál es la que ofrece mejores resultados, lo importante es realizarla de manera adecuada y minuciosa; ya si hay un caso especial que necesite el empleo de una, se debe enseñar al paciente de qué forma realizarla (Miñana, 2011).

Cepillos interproximales: Permiten la limpieza de zonas de difícil acceso. Sus filamentos son de Tynex® en forma cónica o cilíndrica. El alambre trenzado que soporta los filamentos es de acero inoxidable. Existen algunos modelos con mango ergonómico al que se adapta el alambre con los filamentos. Otros modelos presentan mango recto, pequeño y flexible, que no necesita montaje, con capuchón individual.

El cepillo debe introducirse espaciosamente de forma que sean los filamentos los que estén en contacto con el diente. Debe realizarse el cepillado deslizando el cepillo de adentro hacia afuera, sin hacerlo girar.

Existen diferentes tamaños para ajustarse a las distintas necesidades del paciente y se ha de utilizar el tamaño de cepillo más adecuado para cada espacio interdental (Arteagoitia et al; 2002).

Hilo dental: En cuanto a este auxiliar, su función va dirigida para la limpieza interproximal de los dientes y su uso diario es imprescindible para una higiene bucal completa. Existen diferentes tipos. En general están constituidos por una capa de nailon y una capa externa

de polímero que lo hacen resistente y evitan que se deshilache. Pueden presentarse con o sin cera o con flúor y mentol (Arteagoitia et al., 2002).

Además del cepillado como método mecánico principal utilizado para obtener buenos resultados al realizar la higiene bucal, hay otros factores químicos que ayudan a que la limpieza sea más completa, como la pasta dentífrica, enjuagues y geles bucales (Soria - Hernández et al., 2008).

Control químico

Los dentífricos son utilizados sobre las superficies de los dientes junto con el cepillo dental., existe actualmente una gran variedad de ellos con propiedades cosméticas o terapéuticas, como disminuir la acumulación de placa, la formación de cálculo, disminuir la incidencia de gingivitis. Por medio de sus componentes tensoactivos y detergentes ayudan a remover residuos alimenticios y placa, mediante sus agentes abrasivos y pulidores a eliminar pigmentaciones y manchas, además contiene saborizantes, característica importante para la aceptación por parte del consumidor (Jiménez, 2008).

Otro elemento del control químico es la utilización de enjuagues o geles bucales como agentes antiplaca o antibacterianos, que por medio de sus componentes ayudan disminuir la placa y aminorar la inflamación.

4 Control químico del biofilm.

El uso de agentes antiplaca o antibacterianos, ya sea como colutorio o gel, para ayudar a reducir la placa bacteriana puede beneficiar la prevención y el tratamiento de la gingivitis en algunos pacientes (Hancock, 1996). Un agente eficaz para el tratamiento de la gingivitis debe reducir la placa y demostrar una reducción efectiva de la inflamación gingival durante un período de al menos 6 meses. El agente también debe ser seguro y no inducir efectos secundarios adversos.

Se ha otorgado el sello de aceptación de la ADA a tres medicamentos para el control de la gingivitis. Los ingredientes activos de un producto son timol, mentol, eucaliptol y salicilato de metilo. Los ingredientes activos de los otros dos son digluconato de clorhexidina y triclosan (Mandel, 1994).

4.1 Triclosán

El triclosán, es una sustancia no iónica, incolora, que fue desarrollada en los años 60; en condiciones normales se trata de un sólido incoloro con un ligero olor a fenol. Es un agente antimicrobiano sintético que se incorporó en numerosos productos de consumo para establecimientos de salud y para la comunidad, incluyendo jabones, detergentes, limpiadores, cremas dentales y desodorantes (Diomedi et al., 2017).

Gracias a su espectro antimicrobiano y su alta sustantividad (se retiene un 25% de la sustancia tras su uso como colutorio) hace que se considere un buen agente antiplaca y antiinflamatorio en la gingivitis y posiblemente inhibe la progresión de la periodontitis (Cummins, 1991). Esta sustancia actúa induciendo un cambio en la composición de la placa supragingival (Lindhe et al., 1993).

4.2 Clorhexidina

La clorhexidina, pertenece al grupo químico de las bisbiguanidas, correspondiendo a una molécula catiónica desarrollada, accidentalmente, en Inglaterra en 1954 (Maya et al., 2011); estudios *in vitro* revelaron una alta actividad antibacteriana y una baja toxicidad en mamíferos, buena afinidad con la piel, membranas y mucosas. Todas estas propiedades llevaron al posterior desarrollo y aplicación de ésta como un recomendado

antiséptico para piel y mucosas, en heridas leves y para uso odontológico (Torres et al; 2009).

La forma en base es mínimamente soluble en agua, pero la forma en sal, el digluconato, es mucho más soluble. La actividad antimicrobiana es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplásmica, que alteran el equilibrio osmótico y causan precipitación de los contenidos celulares (Maya et al., 2011), inhibiendo la utilización del oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. A bajas concentraciones, la clorhexidina exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida. Es ampliamente activa contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, anaerobias facultativas y aerobias y, en menos grado, contra hongos y levaduras (Maya et al., 2011).

A nivel bucal, es capaz de inhibir la formación de biofilm y la gingivitis en estados de salud; pero, además, actúa sobre la placa ya formada, produciendo su dispersión y eliminación. Una de sus grandes ventajas es su alta sustentividad, es decir, queda retenida en las estructuras orales y en la placa en altas concentraciones (30%) y tiempo, lo que prolongará su efecto antiplaca y antigingivitis (Currul, 2001).

Es, quizás, el agente antiplaca más conocido y el más eficaz, quedando esto demostrado en innumerables estudios, ya sea en forma de dentífrico, colutorio, gel o también en forma de aerosol.

Sin embargo, tiene una serie de efectos secundarios que limitarán su uso: tinciones de dientes, composites y lengua, alteración del sentido del gusto y, en algunas ocasiones, descamación de la mucosa oral, por lo que no se recomienda su uso por lapsos prolongados (Gjerme, 1989).

4.3 Productos Naturales

Actualmente se han buscado varias alternativas naturales para poder aplicarlos en este tipo de enfermedades, buscando resultados similares y que no tengan efectos secundarios.

Por ejemplo, la fitoterapia es una práctica médica ancestral que utiliza preparados a base de plantas en el tratamiento y prevención de enfermedades (Díaz et al., 2018).

4.3.1 *Aloe vera*

Uno de estos productos naturales es el *Aloe vera*, el cual, mediante modelos experimentales in vitro e in vivo se han evaluado sus acciones farmacológicas, antibacterianas, antiinflamatorias, analgésicas, antivirales, antifúngicas, antioxidantes, así como sus efectos cicatrizantes (Angulo et al., 2017).

Tomando en consideración los efectos antiinflamatorio, antimicrobiano y cicatrizante de tejidos del *Aloe vera*, su aplicación en Odontología es muy amplia. La enfermedad periodontal, tiene un componente infeccioso con destrucción de tejido, la cicatrización necesita ausencia de microorganismos por lo cual, el uso de esta planta podría resolver de manera económica y relativamente segura tales efectos (Alarcón et al., 2013).

Igualmente se ha demostrado la acción del *Aloe vera* contra microorganismos como el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bacteroides fragilis* causantes de la enfermedad periodontal, así como sus efectos beneficiosos en enjuagues bucales destinados a reducir la placa dentobacteriana y la prevención de la gingivitis (Díaz et al., 2018).

De igual manera, otro producto natural utilizado para combatir estas patologías es el Té verde. Aunque solo se han realizado estudios sobre los efectos antimicrobianos de este, los resultados han sido beneficiosos (Moromi et al., 2011).

Si se usa adecuadamente, la adición de un agente antiplaca a un régimen de tratamiento de gingivitis para pacientes con control de placa deficiente probablemente dará como resultado la reducción de la gingivitis.

4.3.2 Propóleo.

La práctica médica que se ha estado investigando es la apicultura con el uso del propóleo.

La apicultura es la técnica que consiste en cuidar un enjambre de abejas dentro de colmenas, obteniendo productos de las abejas melíferas, miel, polen, propóleos y jalea real (Abejas y la apicultura, 2017). En los recientes años se ha visto la rápida aplicación de estos productos tanto en la medicina tradicional y moderna.

De acuerdo con Dodwad y Kukreja, (2011), el propóleo deriva del griego “propolis” que significa “pro”- defensa y “polis”- ciudad o comunidad (colmena); y es mejor conocido como el “pegamento azul”, refiriéndose a la sustancia resinosa acumulada por las abejas de los diferentes tipos de plantas.

Existe evidencia histórica que data del año 300 a. C. sobre el uso de los propóleos con fines medicinales (Russo et al., 2004). Los antiguos egipcios lo utilizaban para embalsamar a sus momias, los griegos para aliviar diferentes padecimientos, Hipócrates (460-377 a. C.) lo administró para el tratamiento de úlceras en piel y Aristóteles (384-322 a. C.), para el tratamiento de abscesos y heridas. Los Incas lo utilizaban para disminuir la fiebre (Castaldo y Capasso, 2002). En la actualidad es utilizado por algunas culturas de los estados europeos (Balcánicos) como tratamiento para heridas, quemaduras, faringitis y úlcera estomacal. La administración de este producto se ha mantenido durante siglos hasta llegar a nuestros tiempos, en los que se están realizando investigaciones científicas sobre el empleo de preparados a base de propóleos en los campos de la biología y la medicina humana.

El propóleo es un producto de la colmena elaborado por abejas de la especie *Apis mellifera*, utilizando sustancias resinosas recolectadas de varias plantas. Estas sustancias se mezclan con la enzima b-glicosidasa de su saliva, se digieren parcialmente y se agregan a la cera de abeja para formar el producto final (Umthong et al., 2011).

El propóleo es un producto apícola resinoso y complejo, con una variable apariencia física, puede ser ocre, rojo, pardo, marrón claro o verde, algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos (Salatino et al., 2005).

Dentro de sus funciones está el sellado de agujeros, grietas y para reconstrucción de la colmena, también se utiliza para alisar las superficies internas de esta, conservando la temperatura interna (35° C), evitando la intemperie y la invasión de los depredadores; además el propóleo endurece la pared y contribuye a un ambiente interno aséptico (Pasupuleti et al., 2017).

La composición exacta del propóleo puro varía de acuerdo con la región, planta proveedora de resina y especie de abeja recolectora, reflejando la diversidad de actividades biológicas que este producto presenta (Ghisalberti, 1979).

El propóleo es considerado el tercer componente más importante de los productos de las abejas; compuesto principalmente de resina (50%), cera (30%), aceites esenciales (10%), polen (5%), y otros compuestos orgánicos (5%). También contiene importantes vitaminas como la B1, B2, B6, C y E; minerales útiles como magnesio, calcio, potasio, sodio, cobre, zinc, manganeso y hierro (Pasupuleti et al., 2017) pero, como se mencionó anteriormente, la composición de los propóleos dependerá tanto de la vegetación, clima, época del año, así como de la especie de abeja que lo haya recolectado (Suarez et al., 2013).

Los componentes más activos del propóleo son los ácidos aromáticos y compuestos fenólicos. La galangina (actividad antibacterial y antiviral), pinocembrina y pinostrobin son conocidos como los agentes flavonoides más eficaces contra bacterias (Franca et al., 2014).

Es recolectado básicamente por dos métodos, el raspado y el método por medio de mallas plásticas semirrígidas, aunque se conoce en la actualidad un sistema colector inteligente de propóleo. El procedimiento de las mallas es la técnica que nos permite una

cosecha del propóleo con menor cantidad de impurezas (Jürgens, 2002), en cuanto a la otra técnica se encuentra el método de raspado que, debido a su modo de ejecución, al momento del raspaje se incorporan en el propóleo restos de madera lo que sin duda afecta la ulterior estandarización de este (Suarez et al., 2013).

En México la apicultura genera alrededor de 100 mil empleos directos y se produce más de 57 toneladas de miel al año, siendo Yucatán el principal productor con más de 8 mil toneladas (Secretarías de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015).

Por sus diferentes tipos de climas y flora que influyen en la composición de recursos de néctar y polen, México está definido en 5 regiones apícolas (norte, costa del Pacífico, golfo, altiplano y sureste o península de Yucatán), lo que hace que haya variedad de mieles, así como los demás productos (propóleo) de lo cual van a depender sus características como, humedad, color, aroma y sabor.

Según la Coordinación General de Ganadería, mediante el Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana (2010) destaca la región norte y menciona que está caracterizada por la excelente miel que produce, principalmente de mezquite, de donde se produce miel extra clara ámbar, los estados que integran esta zona son: Baja California, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León, parte del norte de Tamaulipas y altiplano de San Luis Potosí.

En general, el propóleo tiene numerosas aplicaciones en el tratamiento de diversas enfermedades debido a que posee propiedades antisépticas, vasodilatadoras, antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, antimicóticas, antiulcerosas, anticancerígenas e inmunomoduladoras (Pasupuleti et al., 2017).

Como producto antiinflamatorio natural, inhibe la síntesis de prostaglandinas, activa la glándula del timo y ayuda al sistema inmunitario a promover la actividad fagocítica, estimular la inmunidad celular y aumentar los efectos curativos en los tejidos epiteliales. Además, contiene elementos como hierro y zinc que son importantes para la síntesis de colágeno (Özana et al., 2007).

Con la aparición de microorganismos resistentes a los antibióticos, conocidos por su peligrosa acción en las heridas, reduce las opciones de tratamiento. Esto llevó a una mayor investigación de la actividad antimicrobiana de productos naturales como posibles alternativas (Morais et al., 2011).

Dentro del campo de la odontología, el propóleo tiene diferentes aplicaciones, algunos son: alivio de úlceras y estomatitis de la dentadura postiza, ambientador de la halitosis, absceso de bolsas periodontales y sensibilidad a caries radicular. También como tratamiento de liquen plano, infecciones por *Candida*, quelitis angular, xerostomía, úlceras traumáticas ortodónticas, erupción dentaria, recubrimiento pulpar, restauraciones temporales y apósitos, cubriendo preparaciones dentales, caries momificadas de dientes deciduos, apósitos post-extracción, alveolitis, preanestésico, periodontitis, etc. (Park et al., 1998; Koo et al., 1999).

Como se ha mencionado ya, la cavidad oral contiene una abundante microbiota bacteriana y un crecimiento excesivo que puede conducir a enfermedades orales. La aplicación de propóleos contra estas puede ser beneficiosa para mejorar la salud oral. Se dice que el extracto de propóleo es menos tóxico sobre los fibroblastos, comparado con sustancias sintéticas (clorhexidina) (Akca et al., 2016).

Siguiendo con su acción antimicrobiana, el propóleo, a través de los flavonoides, tiene actividad contra: *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodosus*, *Klebsiella pneumoniae*, incluso, contra *Streptococcus pyogenes*, que es resistente a los antibióticos (Mirzoeva et al., 1997).

Los flavonoides del propóleo, además de destruir las células bacterianas y micóticas, contrarrestan el efecto de la propagación de las toxinas bacterianas (Muñoz et al., 2011).

Autores como Quintana Díaz et al. (1997) y Martínez Silvera et al. (1988) realizaron estudios *in vivo* sobre sus beneficios en la terapéutica de la alveolitis y lesiones periodontales, además se han observado efectos beneficiosos del propóleo sobre lesiones gingivales, úlceras y aftas bucales.

El propóleo es capaz de mantener la vitalidad de las células de los ligamentos periodontales, tiene la capacidad de inhibir la actividad osteoclástica, puede inducir la producción de dentina tubular y también disminuir la inflamación de la pulpa. Por ello, en los estudios de los últimos años se ha propuesto el uso del propóleo en tratamientos de periodontitis (Ahangari et al., 2018).

En cuanto a las propiedades antimicóticas del propóleo se ha demostrado en estudios *in vitro* de extractos de propóleos de diferentes orígenes que mostraron actividades antifúngicas sobre dermatofitos y especies de *Candida*. Esta cualidad de inhibir el crecimiento de hongos depende del origen del propóleo y del solvente usado para su extracción. También se han realizado experimentos *in vitro* con *Candida albicans*, procedentes de pacientes con VIH, obteniendo resultados satisfactorios (Martins et al., 2002).

El extracto etanólico de propóleos al 20% frente a *Candida albicans* aislada de la mucosa oral, es igualmente potente como la nistatina (antimicótico macrólido tetraénico) y supera en efectividad a otros antifúngicos tales como clotrimazol, econazol y fluconazol ante quienes este hongo es resistente (Farre et al., 2004).

Otro dato que podría ser fructífero en varios campos de la práctica odontológica es la acción antiinflamatoria y cicatrizante que ha tenido mucha atención ya que se ha encontrado que, en estudios realizados *in vitro* en la médula ósea de ratones, por primera vez, el propóleo ha demostrado inhibir tanto la formación de osteoclastos y su maduración. Esta inhibición se produjo a las concentraciones de propóleos que no impiden el crecimiento y supervivencia celular (Pileggi et al., 2009).

También se ha hallado un estudio observacional descriptivo de carácter retrospectivo, cuyo propósito fue determinar la efectividad del uso del propóleo al 5% en la evolución de los pacientes con alveolitis. La muestra correspondía a 40 pacientes que se realizaron

extracciones y que presentaron alveolitis. A estos pacientes luego de realizárseles curetaje suave del alveolo y lavado con suero fisiológico se les aplicó propóleos al 5% con la ayuda de una jeringa, luego se les colocó una torunda estéril en el alveolo y se le indicó al paciente regresar al próximo día en caso de no desaparecer el dolor. Se evaluó el comportamiento de diversas variables, como el sexo y el tiempo de curación. La conclusión establecida por los investigadores fue que, el uso del propóleos al 5% en el tratamiento de la alveolitis resulta efectivo ya que los pacientes tuvieron remisión de los síntomas entre las 48 y 72 horas mayormente (Gómez et al., 2008).

Evia Ramírez y colaboradores (2001), comprobaron que, en el manejo de las lesiones bucales en pacientes pediátricos inmunodeprimidos, es más efectivo el propóleo que el gluconato de clorhexidina, por la acción analgésica que tiene, ya que el promedio de días en desaparecer el dolor fue de 2.2 días, mientras que el grupo manejado con clorhexidina su promedio fue de 4.6 días.

El propóleo ha sido empleado para curar heridas sépticas faciales en un grupo de 10 pacientes, con el objetivo de comprobar su efectividad, la cual ha quedado en evidencia, ya que el 90 % de los pacientes presentó una total mejoría en los primeros 7 días de tratamiento y sólo 1 paciente necesitó 13 días para la cura total de la herida, por lo que se demuestra su gran efectividad en esta afección y se recomienda su uso (Quintana et al., 1997).

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL

- Micropipetas
- Vaso de precipitados
- Probeta
- Frasco lavador
- Soporte universal
- Mechero de alcohol
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cajas para ratones
- Matraz Erlenmeyer
- Matraz de fondo redondo
- Espátula
- Biopsy®
- Cassettes
- Papel filtro
- Pinzas
- Cubos metálicos
- Navaja
- Canastillas
- Recipientes de plástico
- Hisopos

SUSTANCIAS

- Etanol 50%, 70 % 80% 90% 100%
- TPA
- Acetona
- Propoleo
- Bexident® Encias Gel
- Formol
- Butanol I y II
- Parafina I, II e inclusión
- Agua destilada
- Gelatina
- Xilol I y II
- Hematoxilina
- Agua corriente
- Alcohol acido
- Carbonato de litio
- Eosina
- Resina

EQUIPO

- Balanza
- Rotavapor
- Cámara de CO₂
- Horno
- Microtomo
- Baño de flotación
- Refrigerador

METODOLOGÍA

Animales de laboratorio

Se utilizaron 18 ratones *Mus musculus* de la cepa CD-1 machos de 4-6 semanas de edad, los cuales fueron proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Los animales estuvieron sometidos a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Estuvieron en condiciones de laboratorio con comida y agua *ad libitum*.

Obtención de Propóleo

Técnica de maceración

El propóleo en greña se pesó y se limpió de todos los restos de hojas y animales muertos que pueda tener, después de esto se pesó de nuevo ya limpio y se introdujo en un matraz Erlenmeyer, posteriormente se agregó la cantidad de solvente necesario (etanol 70%), el cual debe cubrir y sobrepasar el propóleo, el recipiente fue cubierto para evitar la evaporación del solvente y la penetración de la luz.

El propóleo se dejó reposar como mínimo 1 día y máximo 2 semanas, la extracción de los compuestos se ve reflejado en la coloración del líquido, entre más oscuro, mayor es el rendimiento del propóleo. Por último, se realizó una destilación a presión reducida en un rotavapor para obtener el extracto libre del solvente. Una vez obtenido el extracto libre de solvente se pesó para saber el rendimiento.

Inducción de Inflamación

Se provocó un edema auricular por Activador Tisular Plasminógeno (TPA). Se indujo de acuerdo con el método modificado de De Young et al. (1989). En éste, una solución de 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA) (2,5 µg) disuelto en acetona (20 µL) se aplicó tópicamente sobre la superficie interna y externa de la oreja derecha de los ratones de la cepa CD-1 machos de 4 a 6 semanas (10 µL/lado) para provocar la inflamación.

Grupos de Experimentación

Se formaron 3 grupos de 6 ratones cada uno con ayuno de 12 horas previas a la inducción del edema auricular, con acceso libre de agua.

Grupo 1: Conformado por 6 ratones a los cuales se les aplicó propóleo de manera tópica en una concentración de 150mg/kg. Los primeros 3 ratones se sacrificaron a las 6 horas posteriores a la administración del TPA; y los otros 3 ratones a las 24 horas.

Grupo 2: Conformado por 6 ratones a los cuales se les aplicó el medicamento (Bexident® Encias Gel) de forma tópica. Fueron sacrificados de la misma forma que el grupo 1.

Grupo 3: Conformado por 6 ratones a los cuales solo se les hizo la aplicación del TPA, pero fueron sacrificados de la misma forma que los grupos anteriores.

Los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂ y se tomaron secciones circulares (5mm de diámetro) de ambas orejas del animal (tratada y no tratada), con ayuda de un Biobsy®, las cuales se procesaron mediante la técnica convencional de histología.

Técnica histológica

Una vez tomadas las secciones de tejido, se colocaron en cassettes y se sumergieron en solventes siguiendo el orden que se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Secuencia de solventes.

	SECUENCIA	SOLVENTES	TIEMPO
	I	Formol 4%	
DESHIDRATACIÓN	II	Alcohol 70%	2 horas
	III	Alcohol 80%	2 horas
	IV	Alcohol 90%	2 horas
	V	Alcohol 100%	2 horas
ACLARACIÓN	VI	Butanol I	1 hora
	VII	Butanol II	1 hora
IMPREGNACIÓN	VIII	Parafina I	24 horas
	IX	Parafina II	24 horas

Nota. Esta tabla muestra la secuencia en la que se deben introducir los cassettes con las muestras en los solventes.

Formación de bloques de parafina: Posteriormente se llenó el molde con parafina de inclusión caliente; con una pinza calentada en el mechero, se tomó el tejido orientándolo con la parte distal hacia la base del molde, se sumergió y se cubrió totalmente con parafina.

Cortes en el micrótopo: Se preparó el baño de flotación antes de cortar (agua destilada + gelatina). Se colocó la navaja en el micrótopo, se ajustó el portabloques, el bloque se refrigeró antes de colocarlo, evitando así que se calentara rápido con la fricción de la navaja. Se rebajó el bloque hasta alcanzar el tejido, los cortes finales tuvieron un grosor de 5 micras, una vez obtenidos los cortes se colocaron en un portaobjetos y se agregó alcohol al 50 % para extender el tejido. El corte se colocó en el baño de flotación para extender el tejido y se recuperaron con el portaobjetos.

Tinción con Hematoxilina-Eosina: Se colocaron las muestras (portaobjetos) en canastillas y se desparafinó en la estufa durante 3 horas aproximadamente, después se sometieron al tren de alcoholes, en la secuencia que muestra la tabla 2.

Tabla 2. Tren de alcoholes.

ORDEN	SUSTANCIA	TIEMPO
I	Xilol I	5 min
II	Xilol II	10 min
III	Alcohol etílico 100%	10 lavados
IV	Alcohol etílico 90%	10 lavados
V	Alcohol etílico 80%	10 lavados
VI	Alcohol etílico 70%	10 lavados
VII	Agua corriente	10 lavados
VIII	Hematoxilina	5 min
IX	Agua corriente	10 lavados
X	Alcohol ácido	1 lavado
XI	Agua corriente	10 lavados
XII	Carbonato de litio	Hasta de vire
XIII	Agua corriente	1 lavado
XIV	Alcohol etílico 100%	10 lavados
XV	Eosina	15 min
XVI	Alcohol etílico 70%	10 lavados
XVII	Alcohol etílico 80%	10 lavados
XVIII	Alcohol etílico 90%	10 lavados
XIX	Alcohol etílico 100%	10 lavados

XX	Xilol I	10 lavados
XXI	Xilol II	Hasta que se monte

Nota. Esta tabla muestra la secuencia en la que deben ser sumergidos los portaobjetos con las muestras dentro de los alcoholes.

RESULTADOS

En el grupo 1 (Propóleo) en un 100% de las muestras hubo cambio de coloración tanto en los ratones sacrificados a las 6 horas como a los de 24 horas (Tabla 3). En el grupo 2 (Bexident® Encias Gel) se muestra un cambio de coloración en los ratones sacrificados a las 24 horas (Tabla 4). En el grupo 3, en el cual solo se aplicó TPA, se observó en un 100% de las muestras, el enrojecimiento característico de la inflamación (Tabla 5).

Tabla 3. Grupo 1 Propóleo

N° De ratón/Hora de sacrificio	Cambio de coloración
Ratón 1/ 6 hrs	Si
Ratón 2/ 6 hrs	Si
Ratón 3/ 6 hrs	Si
Ratón 4/ 24 hrs	Si
Ratón 5/ 24hrs	Si
Ratón 6/ 24 hrs	Si

Nota. Resultados del grupo 1.

Tabla 4. Grupo 2 Bexident® Encias Gel

N° De ratón/Hora de sacrificio	Cambio de coloración
Ratón 1/ 6 hrs	No
Ratón 2/ 6 hrs	No
Ratón 3/ 6 hrs	No
Ratón 4/ 24 hrs	Si
Ratón 5/ 24hrs	Si
Ratón 6/ 24 hrs	Si

Nota. Resultados del grupo 2.

Tabla 5. Grupo 3 TPA (Control)

N° De ratón/Hora de sacrificio	Cambio de coloración
Ratón 1	Si
Ratón 2	Si
Ratón 3	Si
Ratón 4	Si
Ratón 5	Si
Ratón 6	Si

Nota. Resultados del grupo 3.

De los datos mostrados en las tablas 3, 4 y 5, se obtuvieron las muestras del tejido de las orejas. Con estas muestras se realizaron los cortes histológicos y la tinción de Hematoxilina-Eosina. Desafortunadamente, por la contingencia sanitaria (SARS-CoV-2, COVID-19), no se pudo hacer el análisis de estas preparaciones.

Sin embargo, se presenta una discusión realizada con base a la bibliografía consultada.

DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue comparar la respuesta tópica del propóleo versus Bexident® Encías Gel en el enrojecimiento auricular inducido en ratones. Durante el experimento, los resultados favorecieron al propóleo al tener una respuesta más rápida.

Cabe recordar que la respuesta inflamatoria es una medida de protección del cuerpo ante un daño, que permite proteger al huésped del agente agresor, con la finalidad de reestablecer la homeostasis (Moreno, 2000). Sin embargo, esta respuesta del organismo puede generar diversos signos y síntomas (Gautam y Jachak, 2009).

En la constante búsqueda de nuevos fármacos con actividad antiinflamatoria, los productos naturales nos brindan una gran diversidad de fitoquímicos, con una incomparable complejidad estructural y un gran potencial biológico (Gómez et al., 2008). A nivel mundial, el propóleo ha sido utilizado por la medicina tradicional desde la antigüedad, esto gracias a sus diversas propiedades farmacológicas entre las que se destaca su potencial antiinflamatorio, sin embargo, su composición y propiedades varían ampliamente de un lugar a otro.

Núñez et al. (2018), realizaron un estudio cuyo propósito fue realizar una evaluación *in vivo* de las propiedades antiinflamatorias de un extracto de propóleo chileno, sobre el modelo de edema auricular inducido por 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA) en pabellón auricular de ratón, mismo que se utilizó para el presente estudio; para posterior evaluación y análisis histológico. El extracto de propóleos chileno (EEP) utilizado se obtuvo a partir de un macerado etanólico, rota evaporado y liofilizado. Sus resultados obtenidos en los ensayos *in vivo* indicaron que el extracto de propóleo chileno disminuyó el proceso inflamatorio agudo de forma significativa en una lesión tópica con TPA gracias a la alta concentración de polifenoles presentes en la muestra, disminuyendo el diámetro de la oreja inflamada de forma significativa. Además, los resultados de la evaluación histológica permitieron observar los cambios en el tejido, pudiendo determinar que el tratamiento con propóleos permite el mantenimiento de la integridad del epitelio,

disminuyendo la congestión y vasodilatación en pequeños vasos y el edema en el tejido conectivo, además de reducir la respuesta inflamatoria del mismo. Concluyendo que el EEP disminuyó el edema y el infiltrado inflamatorio de forma significativa. Estos resultados sugieren que el extracto etanólico de propóleo chileno posee potenciales efectos antiinflamatorios o moduladores del sistema inmunológico en edema auricular.

Almeida et al (2002), señalan que en un reciente "movimiento de regreso a la naturaleza", el hombre moderno está buscando productos naturales con propiedades medicinales, en particular los obtenidos de plantas y abejas. Mencionan que el propóleo se ha utilizado en la medicina popular durante mucho tiempo, pero que los muchos compuestos presentes en el propóleo requieren investigación. Indican también que hay pocos estudios que informen sobre la actividad antiinflamatoria, tanto *in vitro* como *in vivo*, de productos que contienen propóleo y sugieren que es necesario evaluar el potencial antiinflamatorio de estos. Concluyen que una evaluación del potencial antiinflamatorio de productos comerciales que contienen propóleos de varios orígenes fitogeográficos es de gran importancia para su indicación en procesos inflamatorios.

Abbasi, et al. (2018) defienden que el propóleo tiene propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, ya que el ácido cafeico y los flavonoides presentes en la composición del propóleo disminuyen la respuesta inflamatoria y al inhibir las enzimas lipoxigenasa y ciclooxigenasa, previenen la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y leucotrienos. Además, el propóleo mejora la función del sistema inmune ya que induce la actividad fagocítica y la inmunidad celular. Ayuda en la formación de la barrera del tejido duro ya que diferentes sistemas enzimáticos presentes en el propóleo participan en los ciclos de metabolismo celular y en la síntesis de colágeno. Estos efectos se atribuyen a la presencia de complejo vitamínico B, provitamina A, arginina y minerales como cobre, hierro, zinc y bioflavonoides.

Furukawa et al. (2021) apoyan que la aplicación tópica de propóleo reduce la infiltración de células inflamatorias en sitios irritados y promueve la reparación de

epitelio de las mucosas orales. También sostienen que los flavonoides (compuestos del propóleo) son los principales componentes responsables de estas propiedades antiinflamatorias. Al igual mencionan que el propóleo reduce la expresión de IL-1B y TNF- α , las cuales promueven inflamación. Ellos concluyen que el propóleo puede ser eficaz para la reparación de los tejidos orales, por medio de la supresión de la expresión de citoquinas proinflamatorias.

Poppe et al. (1986) ya sostenían que el propóleo posee propiedades antiinflamatorias a través de la inhibición de la producción de prostaglandinas a través de la inhibición de la enzima lipoxigenasa y decían que sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas son similares a las de la aspirina, pero con menos efectos secundarios.

Con esto, al tener presente la acción del propóleo, algunos investigadores realizaron varios estudios de cohortes y ensayos clínicos e indicaron que el propóleo era adecuado para su uso como enjuague bucal (Cowan, 1999), para disminuir la inflamación y la sensibilidad a la dentina (Murray et al. 1997). Al igual que Doswad et al. (2011) que mencionan que este se incorpora en la composición de pastas dentales y enjuagues.

Estos autores nos dan la pauta para tomar sus datos como respaldo para los resultados arrojados en esta investigación que fue que el propóleo ayuda a reducir el enrojecimiento causado por la inflamación, ya que al no estar presente esta condición o estar atenuada, sus signos y síntomas por consecuencia serán reducidos.

Recordemos también, que el propóleo, al tener múltiples sustancias, como los flavonoides, uno de los más importantes, tiene efectos antiinflamatorios, antivirales, antialérgicos, anticancerígenos, antibacterianos y antioxidantes, lo cual lo hacen candidato para su uso en odontología. Éste es capaz de mantener la vitalidad de las células de los ligamentos periodontales, también tiene la capacidad de inhibir la actividad osteoclástica, puede inducir la producción de dentina tubular y también disminuir la inflamación de la pulpa. Por ello, en los

estudios de los últimos años se ha propuesto el uso del propóleo en tratamientos de periodontitis (Ahangari et al., 2018).

Aunque los estudios antes mencionados no son específicos para la evaluación del propóleo como tratamiento de la inflamación dentro de la enfermedad periodontal, son un camino al andar en la investigación en este, es por esto por lo que, aunque en poca cantidad, se han realizado algunos trabajos sobre este tema; cabe mencionar que aun en la actualidad, predominan los estudios que se enfocan a su actividad antimicrobiana.

Ordoñez en 2019, realizó una investigación el cual tuvo como objetivo determinar el efecto del propóleo como agente terapéutico natural antimicrobiano y antiinflamatorio en la disminución de la inflamación y la carga bacteriana en el tejido gingival en pacientes con gingivitis asociada a placa. Reclutó 30 pacientes de sexo femenino con gingivitis asociada a placa, divididas en 2 grupos: grupo control (GC) y grupo propóleo (GP), a quienes se les realizó controles clínicos (Inicial, 7 días y 21 días); en los cuales se registraron: datos personales, fotografías, toma de muestras y profilaxis, al GP se le prescribió la utilización de un enjuague de propóleo (al 10%) cada 12 horas y al GC instrucciones de higiene. Clínicamente se logra calcular el Índice Gingival del GP inicia con un valor de 1,870, decrece en la segunda sesión a 1,470 y en la sesión final disminuye a 1,130; en cambio el GC inició con un valor 1,860 en la primera sesión, decrece a 1,500 en la segunda y termina con 1,310 en la tercera. Microbiológicamente se encontraron familias de: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* spp y *Candida*, en ambos grupos, estableciendo un valor inicial de 55000 UFC/ml y final menor a 10000 UFC/ml. Concluyendo que la utilización del colutorio a base de propóleo podría ser una alternativa para la reducción de la inflamación y reducción de la carga bacteriana en pacientes con gingivitis.

Sin embargo, aunque la evidencia disponible indica que se pueden esperar resultados positivos del propóleo, la escasez de investigaciones en humanos y los tamaños pequeños de muestras de algunos estudios no son suficientes para hacer

recomendaciones a nivel general. Por lo tanto, se debe incrementar el número de estudios científicos en este campo.

CONCLUSIONES

Este estudio, al tener como objetivo principal la comparación de la respuesta tópica entre el propóleo y Bexident® Encías Gel en el enrojecimiento auricular inducido en ratones, los resultados beneficiaron al propóleo al observarse una respuesta más rápida, es decir, disminuyó el enrojecimiento en un periodo de tiempo menor comparado con el producto comercial, cuyo resultado se prolongó más en percibir.

Con base a los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye que el propóleo de aplicación tópica puede ser una alternativa natural para tratar el enrojecimiento, signo característico de la inflamación y con esto, ser útil como tratamiento de apoyo de la enfermedad periodontal.

Sin embargo, falta un sin número de investigaciones, en humanos, así como también *in vitro*, para poder evaluar este producto natural a medio y largo plazo, tanto sus beneficios como sus efectos adversos y así poder usarlo con seguridad y que los profesionales de la salud oral puedan recomendarlo ampliamente y en algún momento emplearlo como tratamiento principal en este tipo de enfermedades.

Cabe mencionar que esta investigación tuvo que ser redireccionada, ya que en un principio la idea original era comparar la acción antiinflamatoria de ambos productos y observar los resultados tanto clínica como histológicamente en modelos murinos para posteriormente aplicarlo en paciente, pero debido a la pandemia ocasionada por Covid-19 (SARS-CoV-2) se interrumpió gran parte del trabajo inicial, por lo que se planteó un nuevo objetivo principal.

REFERENCIAS

- Abbasi, A. J., Mohammadi, F., Bayat, M., Gema, S. M., Ghadirian, H., Seifi, H., Bayat, H., & Bahrami, N. (2018). Applications of Propolis in Dentistry: A Review. *Ethiopian journal of health sciences*, 28(4), 505–512. Recuperado de: <https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i4.16>
- Abejas y la apicultura (2017). *Ecocolmena*. Recuperado de: <http://ecocolmena.com/ecocolmena/politica-cookies/>
- Academy Report (2001). Treatment of Plaque-Induced Gingivitis, Chronic Periodontitis, and Other Clinical Conditions*. *J Periodontol*; 72(12):1790-1800.
- Ahangari Z., Naseri M., Vatandoost F (2018). Propolis: Chemical Composition and Its Applications in Endodontics. *Iran Endod J*; 13(3), 285-292. Recuperado de: <http://doi:10.22037/iej.v13i3.20994>
- Akca, A.E., Akca, G., Topçu, F.T., Macit, E., Pıkdöken, L. y Özgen, I.S. (2016). The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: An In Vitro Study. *BioMed Research International*, Volumen 2016, 8 páginas. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3627463>.
- Alarcón Galleguillos M, Fernández da Silva R. (2013). Aplicación terapéutica del Aloe vera L. en Odontología. *Salus*;17(3):42-50.
- Almaguer. F.A, Villagómez. O.J.G. (2017). *Ecología Oral*. México: Manual Moderno.
- Almeida De, E C; Menenzes, H (2002). Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. *Journal of Venomous Animals Toxins including Tropical Diseases* 8(2): 1–38. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1590/151678-9199200700040002>
- Angulo A, Colina M, Contreras M, et al. (2017). Efectividad de productos naturales como tratamiento de enfermedades periodontales. *Rev Venez Invest Odont IADR*;5(1):105-18.
- Arteagoitia Calvo, Itziar; Díez García, Ma Antonia (2002). Cepillos y accesorios. Limpieza Bucal. *Farmacia Profesional*. 16(5), 65-71.
- Bartold PM. Van Dyke TE (2013). Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*; 62:203–217.
- Branda, Steven S; Vik, Ashild; Friedman, Lisa; Kolter, Roberto. (2004). Biofilms: the matriz revisited. *Trends in Microbiology*, 13(1), 20-26. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.006>
- Castaldo S, Capasso F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*; 73: S1-S6. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X02001855>

- Coordinación General de Ganadería. Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana. (2010). Situación Actual y Perspectiva De La Apicultura en México. *Claridades Agropecuarias*, 199:33.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM (1995). Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*; 49: 711-745.
- Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564–582. Recuperado de: <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Cummins D. (1991). Zinc citrate-triclosan: a new anti-plaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis: short-term clinical and mode of action studies. *J Clin Periodontol*; 18:455-461.
- Currul, Gasol, et.al. (2001). Dentríficos, geles y colutorios, ¿Por qué y para qué sirven? *Periodoncia*; 11(1) Fasc. 5:61-70.
- De Young L, Kheifets J, Ballaron S, Young J. (1989). Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Inflammation Research*; 26(3):335-41.
- Dewhirst FE, Chen T, Izard J, et al. (2010). El microbioma oral humana. *J Bacteriol*; 192(19): 5002-17.
- Díaz López O, Toledo Pimente IB, Veloz Fariñas M, Posada López L, Navas Toledo A. (2018). El Aloe vera su aplicación terapéutica en la enfermedad periodontal inflamatoria crónica. *Rev Méd Electrón*; 40(3).
- Diomedi Alexis, Chacón Eliana, Delpiano Luis, Hervé Beatrice, Jemenao M. Irene, Medel Myriam, Quintanilla Marcela, Riedel Gisela, Tinoco Javier, Cifuentes Marcela (2017). Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Rev Chilena Infectol*; 34(2): 156-174.
- Dodwad, V., & Kukreja, B. J. (2011). Propolis mouthwash: A new beginning. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(2), 121–125. Recuperado de: <https://doi.org/10.4103/0972-124X.84379>

- Dyer D, Addy M, Newcombe RG. (2000). Studies in vitro of abrasion by different manual toothbrush heads and a standard toothpaste. *J Clin Periodontol*; 27(2):99-103. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10703654>
- Evia Ramírez Martha, Villalobos Domínguez Ernesto I, Villafuerte García Arturo, Andrade Flores Francisco (2001). Estudio comparativo entre la eficacia del propóleo y la clorhexidina en el manejo de las lesiones bucales, en pacientes pediátricos inmunodeprimidos. Segunda Parte. *Med Oral*. 3(3):109-114. Recuperado de: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=167&id_seccion=27&id_ejemplar=32&id_revista=6.
- Farre R, Frasquet I, Sanchez A. (2004). El própolis y la Salud. *Ars Pharmaceutica*, 45(1): 21-43. Recuperado de: http://www.cravoecanela.com/propolis_1.pdf.
- Franca, J.R., De Luca, M.P., Ribeiro,T.G., Castilho, R.O., Moreira, A.N., Santos, V.R. Y Faraco, A.A.G. (2014). Propolis- based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(478), 11 páginas.
- Furukawa, M., Wang, J., Kurosawa, M., Ogiso, N., Shikama, Y., Kanekura, T., & Matsushita, K. (2021). Effect of green propolis extracts on experimental aged gingival irritation in vivo and in vitro. *Journal of oral biosciences*, 63(1), 58–65. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.job.2020.12.003>
- Gautam, R. & Jachak, S. (2009). Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Med. Res. Rev.*, 29:767-820.
- Ghisalberti EL. (1979). Propolis: a review. *Bee world*;60(2):59-84.
- Gjerme P. (1989). Chlorhexidine and related substances. *J of Dent Research*; 68:1602-1608.
- Gómez Porcegué Y, Pardillo L V, Sanchez Rodriguez L,Valdez L D. (2008). El uso del propóleo a 5 % en el tratamiento de la alveolitis. *GME*. 10(1). Recuperado de: [http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.10.\(1\)_06/p6.html](http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.10.(1)_06/p6.html).
- Gómez, Y.; Vilvey, L.; Sánchez, L. & Díaz L. (2008). El uso del propóleo el 5% en el tratamiento de la alveolitis. *Gaceta médica espirituana* 10(1).
- Hancock EB. (1996). Prevention. *Ann Periodontol*;1:223-249.
- Harry, E.A. Roberts; Clerehugh, V. (2000). Subgingival calculus: where are we now? A comparative review. *Journal of Dentistry*, 28(2), 93-102.

- Jepsen, S., Deschner, J., Braun, A., Schwarz, F., & Eberhard, J. (2010). Calculus removal and the prevention of its formation. *Periodontology* 2000, 55(1), 167–188. Recuperado de: <http://doi:10.1111/j.16000757.2010.00382.x>
- Jiménez Férrez, Juana (2008). Odontología preventiva (1era edición). México, *Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala*.
- Jürgens C. (2002). Factores que influyen en la producción y almacenado del propóleo. *Vida apíc.* (114): 50-52. Recuperado de: <http://www.vidaapicola.com/tecnica/manejo/almacenado.html>.
- Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Ikegaki M, Sattler A. (1999). Effects of *Apis mellifera* propolis from Brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res*; 33:393–400.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., y Aster, J. C. (2010). Robbins y Cotran Patología estructural y funcional. *Elsevier*. España. 8ª edición. 43-67 pp.
- Kumar, V., Abbas, A. K., y Aster, J. C. (2013). Robbins Patología Humana. *Elsevier*. España. 9ª edición.
- Lindhe J, Rosling B, Socransky SS, Volpe AR. (1993). The effect of triclosan-containing dentifrice on established plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol*; 20:327-334.
- Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. (2000). Periodontología Clínica e Implantología Odontológica, Madrid, España: *Panamericana*.
- Lindhe, J. (2005). Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4ta ed: *Panamericana*.
- López Luengo Ma. Tránsito, (2002). Flavonoides, Fitoterapia, *OFFARM*, 21(4).
- Lorenzo J, Choi Y, Horowitz M, Takayanagi H, editores. (2011). Osteoimmunology. London: Academic Press, *Elsevier Inc.*
- MacGregor IDM, Rugg-Gunn AJ, Gordon PH. (1986). Plaque levels in relation to the number of tooth brushing strokes in uninstructed English schoolchildren. *J Periodont Res*; 21:577-582.
- Mandel ID. (1994). Antimicrobial mouth rinses: overview and update. *J Am Dent Assoc*; 125(Suppl. 2):2S-10S.

- Marsh, Philip. D. (2010). Microbiology of Dental Plaque Biofilms and Their Role in Oral Health and Caries. *Dental Clinics of North America*; 54(3), 441-454.
- Martínez B, Ruiz F. (2008). Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. *Av Periodontol Implantology*. 2005:147-56.
- Martínez Silvera G, Godoy G, Oña A, falcón M A. (1988). Estudio preliminar de los efectos del propolis en el tratamiento de la gingivitis crónica y las úlceras bucales. *Rev. Cubana Estomatol.*, 25(3): 36-43.
- Martins RS, Pereira ES, Lima S.M, Senna M.I, Mesquita RA, Santos V R. (2002). Effect of comercial ethanol propolis extract on the in vitro growth of *Candida albicans* collected from HIV-seropositive and HIV-seronegative Brazilian patients with oral candidiasis. *J Oral Sci*; 44(1): 41-48. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12058869>
- Maya, Juan José; Jamil Ruiz, Sory; Pacheco, Robinson; Valderrama, Sandra Liliana; Villegas, María Virginia (2011). Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. *Infectio*. 2011; 15(2): 98-107.
- Méndez Sarmiento, C. (2004). Patología Humana Basica Aplicada a Rehabilitacion. *Universidad del Rosario*. Bogota. 1ª edición. 55 pp.
- Mills, Michael P. (01 de agosto de 2019). Immunological and Inflammatory Aspects of Periodontal Disease; *Dentalcare.com*. Recuperado de: <http://www.dentalcare.com/en-us/professional-education/ce-courses/ce1>
- Miñana V, (2011). Grupo Prev Infad. Promoción de la salud bucodental. *Rev Pediatr Aten Primaria*; 8(51):435-458.
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res*; 152(3):239-246.
- Morais, M., Moreira, L., Feás, X., Estevinho, L.M., (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology* 49, 1096–1101.
- Moreno del Castillo, María Cristina, Valladares-García, Jorge, Halabe-Cheremb, José; (2018). Microbioma humano, *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 61(6), Noviembre-Diciembre. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.22201.fm.24484865e.2018.61.6.02>

- Moreno, M.; Isla, M.; Sampietro, A. & Vattuone, M. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.*, 71:109-14.
- Moromi Nakata, Hilda; Gutierrez, Margot; Ortiz Fernandez, Lita; Martinez Cadillo, Elba; Medina Calderon, Katia; Romos, Donald; Ruiz, Julio; Castro, Yuri (2011). Efectividad in vitro e in vivo de un gel a base de *Camellia sinensis* "té verde" frente a microorganismos de importancia en procesos periodontales. *Odontol. Sanmarquina*; 14(2):10-12.
- Muñoz, L., Linares, S., y Narváez, W., (2011). Propiedades Del Propóleo Como Aditivo Natural Funcional En La Nutrición Animal, *Biosalud*. 10(2), 101-111.
- Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. (2018). Dental plaque–induced gingival conditions. *J Clin Periodontol*; 45(Suppl 20): S17–S27. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12937>
- Murray, M. C., Worthington, H. V., & Blinkhorn, A. S. (1997). A study to investigate the effect of a propolis-containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. *Journal of clinical periodontology*, 24(11), 796–798. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1997.tb01191.x>
- Nagasawa T, Kiji M, Yashiro R, et al. (2007). Roles of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*; 43:65-84.
- Núñez, R. D.; Balboa, P. N.; Alvear, Z. M.; Ceron, A.; Abarzua, S. K. & Vasconcellos, C. A. (2018). Evaluación de la actividad anti-inflamatoria de propóleos chileno sobre cortes histológicos de orejas de ratón. *Int. J. Morphol.*, 36(1):189-193.
- Ordoñez Gonzalez, Luis Javier; (2019). "Efecto antiséptico y antiinflamatorio del propóleo como agente terapéutico alternativo en pacientes con gingivitis asociada a placa", *Universidad Nacional de Loja, Facultad de la Salud Humana*, Loja Ecuador.S.
- Özana F, Sümerb Z, Polatc ZA, Erd K, Özane U, Değerf O. (2007). Effect of Mouthrinse Containing Propolis on Oral Microorganisms and Human Gingival Fibroblasts. *Eur J Dent*; 1:195–201.
- Page RC, Schroeder HE., (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. Mar;34(3):235-249.
- Papapanou PN, Sanz M, et al. (2018). Periodontitis: Consensus report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and

- Conditions. *J Clin Periodontol*; 45(Suppl 20):S162–S170. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>
- Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. (1998). Effects of propolis on *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii*, *Staphylococcus aureus*. *Rev Microbiol*; 29:143–8.
- Pasupuleti, V.R., Sammugan, L., Ramesh, N. y Hua Gan, S. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 21 páginas. Recuperado de: <http://dio.org/10.1155/2017/1259510>.
- Patil SP, Patil PB, Kashetty MV. (2014). Effectiveness of different tooth brushing techniques on the removal of dental plaque in 6–8 year old children of Gulbarga. *J Int Soc Prev Community Dent*; 4(2):113-116. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25254196>
- Pileggi R, Antony K, Johnson K, y col. (2009). Propolis inhibits osteoclast maturation; *DENT TRAUMATOL*. 25(6): 584–588. Recuperado de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-9657.2009.00821.x/abstract>
- Poppe, B., & Michaelis, H. (1986). Results of a twice-yearly controlled oral hygiene activity using a propolis-containing toothpaste (double-blind study)]. *Stomatologie der DDR*, 36(4), 195–203.
- Quintana Díaz Juan C, Alonso Rodríguez Olga, Díaz Velázquez Mirtha, López Milián Milaig. (1997). Empleo de la tintura de propóleo al 5 % en la cura de heridas sépticas faciales. *Rev Cubana Estomatol*. 34(1): 25-27. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-
- Quiñones M, Miguel M y Aleixandre A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*;27(1):76-89
- Quirynen M, Dadamio J, Van den Velde S, et al. (2009). Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *J Clin Periodontol*; 36:970–975.
- Ramfjord SP. (1993) Maintenance care and supportive periodontal therapy. *Quintessence Int*; 24:465-471.
- Russo A, Cardile V, Sanchez F, Troncoso N, Vanella A, Garbarino J. (2004). Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. *Life sciences*; 76:545-558. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320504008458>

- Salatino A, Weinstein Teixeira É, Negri G, Message D. (2005). Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *eCAM*; 2(1) 33-38. Recuperado de: <http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/content/abs-tract/2/1/33>.
- Samaranayake Lakshman, Matsubara Victor (2017). Normal Oral Flora and the Oral Ecosystem. *Dental Clinics of North America*, 61(2), 199-215.
- Secretarías de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). ¿Que es la apicultura? Tomado el 09 de abril del 2019. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sader/es/articulos/que-es-la-apicultura>.
- Simón-Soro, Á., Tomás, I., Cabrera-Rubio, R., Catalan, M. D., Nyvad, B., & Mira, A. (2013). Microbial Geography of the Oral Cavity. *Journal of Dental Research*, 92(7), 616–621. Recuperado de: <https://doi.org/10.1177/0022034513488119>
- Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Jr.: (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*; 25: 134-144.
- Socransky, S.S. y Haffajee, A.D. (2002). Dental Biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000, 28, 12-55.
- Socransky S.S., Haffajee A.D., Smith C.: (2004). Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. *Oral Microbiol Immunol*; 19: 352-362
- Socransky, S.S. y Haffajee, A.D. (2005). Periodontal Microbial Ecology. *Periodontology* 2000, 38: 135-187.
- Soria-Hernández MA, Molina-F NM, Rodríguez-P R. (2008). Hábitos de higiene bucal y su influencia sobre la frecuencia de caries dental. *Acta Pediatr Mex*; 29(1):21-24. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/actpedmex/apm-2008/apm081e.pdf>
- Suarez Quinodoz, Miguel A O. Rosende, Roque; Finten de Tarallo, Susana Beatriz (2013). Propiedades del Propóleo y su relación con la salud y la práctica odontológica. *REVISTA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA*, Vol. VI N° 1, 21-26.
- Torres M, Díaz M, Acosta A. (2009). Clorhexidina bases estructurales y aplicaciones en estomatología. *Gaceta Médica Espirituana*, 11(1).
- Umthong, S., Phuwapraisirisan, P., Puthong, S., Chanchao, C., (2011). In vitro anti proliferative activity of partially purified *Trigona laeviceps* propolis from Thailand on human cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 11, 30–37.

ANEXOS

Fotografía 1. Grupos experimentales



Fotografía 2. Identificación de ratones



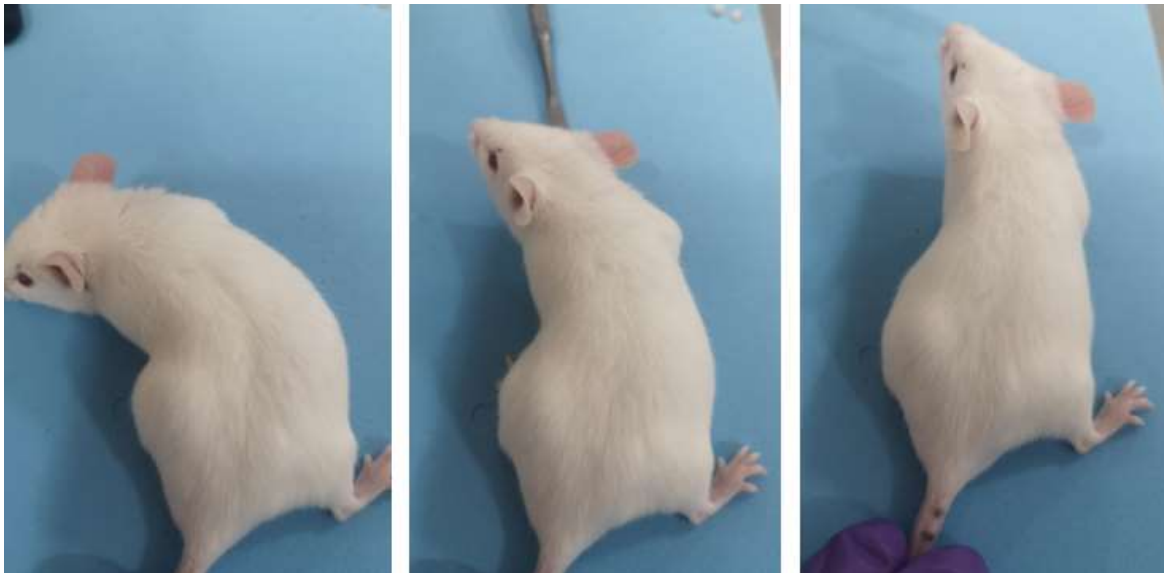
Fotografía 3. Muestras antes de la aplicación de TPA



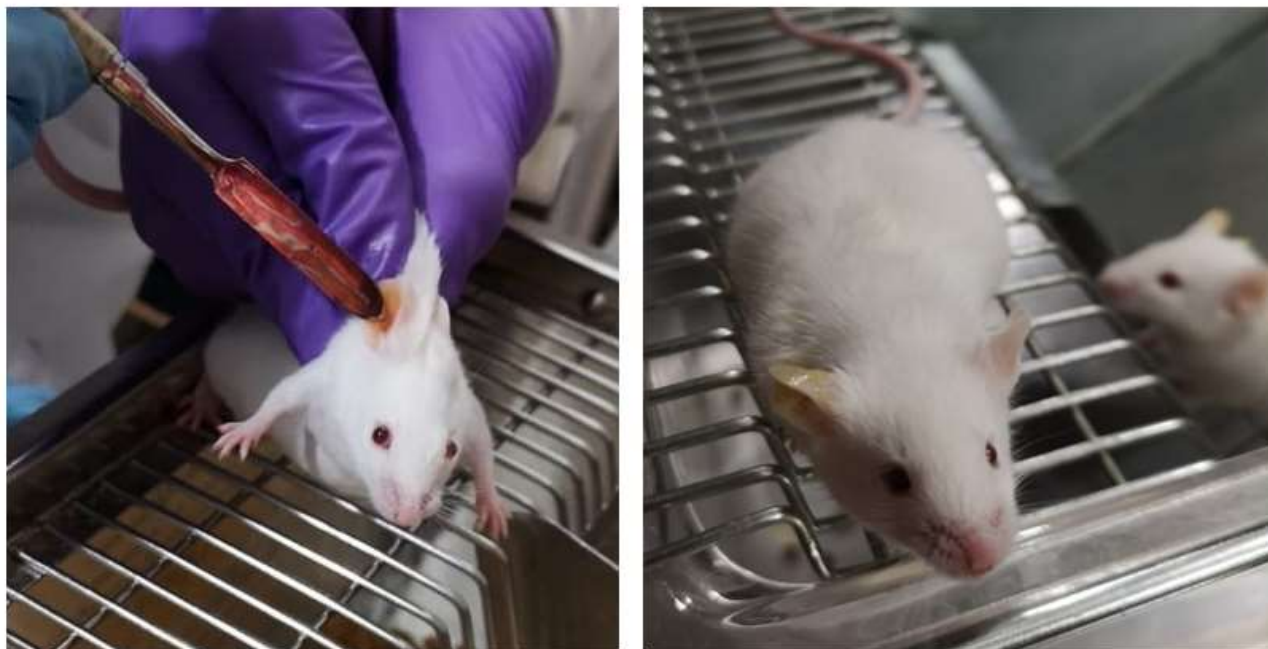
Fotografía 4. Aplicación de TPA



Fotografía 5. Efecto del TPA



Fotografía 6. Aplicación de Propóleo- Grupo 1.



Fotografía 7. Aplicación de Bexident® Encias Gel - Grupo 2.



Fotografía 8. Resultado Propóleo 6 hrs.



Fotografía 9. Resultado Bexident® Encias Gel 6 hrs



Fotografía 10. TPA 6 hrs Grupo control



Fotografía 11. Resultado Propóleo 24 hrs



Fotografía 12. Resultado Bexident® Encias Gel 24 hrs



Fotografía 13. TPA 24 hrs - Grupo Control

