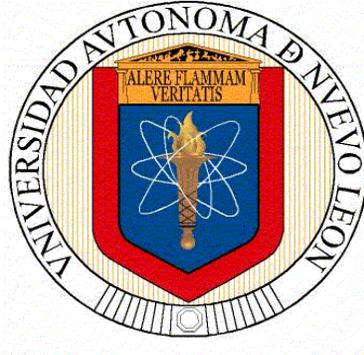


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



TESIS

**ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO CITOTÓXICO DEL GEL DE
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y CLORHEXIDINA SOBRE FIBROBLASTOS**

PRESENTADA POR

CATALINA OCEJO ALMAGUER

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAestrÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
EN EL ÁREA DE PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

DICIEMBRE 2024

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO CITOTÓXICO DEL GEL
DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y CLORHEXIDINA
SOBRE FIBROBLASTOS

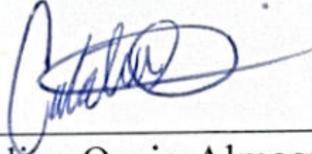
Comité de Tesis

Presidente

Secretario

Vocal

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO CITOTÓXICO DEL GEL
DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y CLORHEXIDINA
SOBRE FIBROBLASTOS



Catalina Ocejo Almaguer
TESISTA

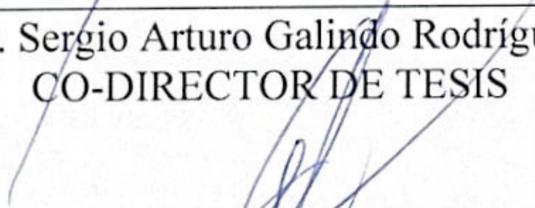
COMITÉ DE TESIS



Dra. María de los Ángeles Andrea Carvajal Montes de Oca
DIRECTOR DE TESIS



Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez
CO-DIRECTOR DE TESIS



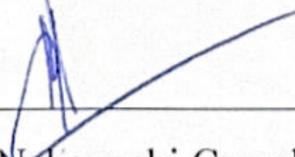
Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos
ASESOR



Dra. Alejandra Baltazar Ruiz
ASESOR



Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
ASESOR



Dr. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda
ASESOR

DEDICATORIA

“El futuro pertenece a aquellos que creen en la belleza de sus sueños”

Eleanor Roosevelt

Este trabajo es para cada una de las personas que ha tocado mi vida a lo largo de los años.

A todos mis **maestros de licenciatura** que sin ellos no hubiera podido aprender las grandes bases de la odontología. Al Dr. Alfredo Salinas y la Dra. Alma Chapa que desde que inicié mi crecimiento profesional estuvieron de la mano en cada uno de los pasos que realizaba.

A todos mis **maestros del posgrado** de Periodoncia, que desde el día uno, me han ayudado a ser mejor profesional y personalmente, a salir de mi zona de confort y a retarme día con día con cada obstáculo que se presentaba en el camino.

A mi **comité de tesis** y asesores Dr. Sergio Arturo Galindo, Dra. María de los Ángeles Andrea Carvajal, Dra. Myriam de la Garza, Dra. Alejandra Baltazar, Dr. César Ro, Dra. Norma Rodríguez y Dr. Jesús Pulido que sin su gran ayuda esto no fuera posible.

A mi **familia, futuro esposo y amigos** que día y noche me alentaban y motivaban a seguir adelante sin importar la circunstancia. Sin su apoyo, cariño y ayuda incondicional nada de esto se hubiera logrado.

AGRADECIMIENTOS

Inicialmente quiero agradecer a **Dios** y la **Mater** por guiarme en el camino, por las oportunidades, herramientas, capacidades y fortaleza para hacer lo que soy hoy en día.

A mis **papas, hermanas y cuñados** que han sido mi aliento y mi soporte durante toda la vida. Gracias por acompañarme incondicionalmente, por cada kilómetro recorrido en carretera para venir a darme un abrazo. Gracias por siempre mostrarme que las cosas que cuestan son las que valen la pena y por no dejarme rendirme nunca. Gracias por enseñarme que la vida se tiene que gozar y que el proceso para lograr las metas debe disfrutarse.

A mi **futuro esposo** que desde hace 9 años me ha acompañado en este caminar, se ha vuelto mi confidente, mi motor para seguir adelante cuando los obstáculos se presentaban y mi apoyo incondicional. Gracias por cada mensaje, llamada y carta de motivación. Gracias por sacarme esa sonrisa cuando más lo necesitaba.

A mis **amigos** que me enseñaron que una verdadera amistad permanece sin importar el tiempo, por alentarme a seguir adelante, por recordarme la importancia de nunca rendirse y por su gran cariño plasmado en lindos detalles.

A mis **compañeros de generación y maestros del posgrado** que han sido durante estos años una familia para mí, apoyando, motivando y acompañando en cada momento.

A **CONAHCYT** por la beca otorgada, gracias a su ayuda logré concretar muchas metas y sueños.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
NOMENCLATURA	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	3
3. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general	4
3.2 Objetivos específicos	4
4. ANTECEDENTES	5
4.1 Tejidos periodontales	5
4.1.1 Encía	5
4.1.1.1 Tejido conectivo.....	5
4.1.2 Ligamento periodontal	7
4.1.3 Cemento	8
4.1.4 Hueso alveolar	8
4.2 Salud periodontal	9
4.3 Clasificación de enfermedades periodontales	9
4.3.1 Gingivitis inducida por placa	10
4.3.2 Periodontitis	10
4.3.2.1 Diagnóstico	11
4.4 Tratamiento periodontal	13
4.4.1 Tratamiento periodontal no quirúrgico	13

4.4.1.1 Control de placa bacteriana	13
4.4.1.2 Raspado y alisado radicular	13
4.5 Coadyuvantes quimioterapéuticos.....	14
4.5.1 Clorhexidina.....	14
4.5.1.1 Compuesto.....	15
4.5.1.2 Mecanismo de acción.....	15
4.5.1.3 Indicaciones y contraindicaciones.....	15
4.5.1.4 Ventajas y desventajas	16
4.5.2 Peróxido de hidrógeno	16
4.5.2.1 Compuesto.....	17
4.5.2.2 Mecanismo de acción.....	17
4.5.2.3 Indicaciones y contraindicaciones.....	18
4.5.2.4 Ventajas y desventajas	18
4.5.2.5 Uso en odontología	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
5.1 Diseño del estudio.....	20
5.2 Universo del estudio	20
5.3 Tamaño de la muestra.....	20
5.4 Criterios de selección	20
5.5 Descripción de procedimientos	21
5.5.1 Formulación de las concentraciones en gel	21
5.5.2 Incubación de fibroblastos	21
5.5.3 Colocación de geles a cultivo	22
5.5.4 Evaluación de citotoxicidad.....	22
5.6 Análisis Estadístico.....	23
5.7 Consideraciones Éticas	23
6. RESULTADOS.....	24
6.1 Análisis de laboratorio.....	24
6.1.1 Resultados de la viabilidad celular en relación el medio de cultivo celular	25
6.1.2 Resultados de la reducción celular respecto al medio de cultivo celular.....	26
6.1.3 Comparativa grupo control positivo y grupo experimental	27
7. DISCUSIÓN.....	28

8. CONCLUSIONES.....	31
9. LITERATURA CITADA.....	32
RESUMEN BIOGRÁFICO.....	38

LISTA DE TABLAS

Tabla	Contenido	Página
I	Resultados de crecimiento y reducción celular en relación con el medio de cultivo celular	25
II	Comparativa con relación a viabilidad y citotoxicidad en relación a la clorhexidina	28

LISTA DE FIGURAS

Figura	Contenido	Página
I	Viabilidad celular en relación al medio de cultivo celular.....	26
II	Citotoxicidad en relación al medio de cultivo celular.....	27

NOMENCLATURA

CHX	Clorhexidina
PH	Peróxido de hidrógeno
g	Gramos
ml	Mililitros
μl	Microlitro

TESISTA: Catalina Ocejo Almaguer.

DIRECTORA DE RESIS: Dra. María de los Ángeles Andrea Carvajal Montes de Oca.

CODIRECTOR DE TESIS: Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO CITOTÓXICO DEL GEL
DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y CLORHEXIDINA
SOBRE FIBROBLASTOS

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El peróxido de hidrógeno es un agente oxidante de amplio espectro contra bacterias, esporas, virus y hongos. Funge como coadyuvante en el tratamiento periodontal por su efecto bacteriostático y bactericida en relación con su concentración. El uso de este compuesto químico se ha estudiado en solución líquida; sin embargo, falta evaluar el efecto citotóxico que presenta en células gingivales de la presentación en gel, haciendo su efecto de manera localizada. **OBJETIVO:** El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto citotóxico *in vitro* sobre fibroblastos de geles de peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones (0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %); comparando así, los resultados con la clorhexidina al 0.1 % en gel y con un gel de base, es decir, sin sustancia activa. **METODOLOGÍA:** Inicialmente, se preparó un gel base hidratando y gelificando el polímero carbomero. Posteriormente, se incorporó el peróxido de hidrógeno de acuerdo con las concentraciones ya establecidas. La segunda etapa se inició con la incubación de los fibroblastos dérmicos humanos ATCC PCS-201-012 en DMEM, seguido de la colocación de los geles en los 4 grupos experimentales posterior a 24 horas. Se evaluó la citotoxicidad por medio óptico con microscopio utilizando MTT. **RESULTADOS:** El gel de peróxido de hidrógeno en las 4 concentraciones resultó menos citotóxico en comparación al gel de clorhexidina al 0.1 %. La diferencia de viabilidad celular del gel de peróxido al 0.75 % fue del 17.66 % mayor en relación con la del gel de clorhexidina. **CONCLUSIÓN:** El peróxido de hidrógeno como agente antiséptico para el tratamiento periodontal no quirúrgico cuenta con reducción de la citotoxicidad en fibroblastos comparándolo con la clorhexidina.

TESISTA: Catalina Ocejo Almaguer
DIRECTOR DE RESIS: Dra. María de los Ángeles Andrea Carvajal Montes de Oca
CODIRECTOR DE TESIS: Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

COMPARATIVE STUDY OF THE CYTOTOXIC EFFECT OF
HYDROGEN PEROXIDE AND CHLORHEXIDINE
GEL ON FIBROBLASTS

ABSTRACT

BACKGROUND: Hydrogen peroxide is a broad-spectrum oxidizing agent against bacteria, spores, viruses, and fungi. It is an adjuvant in periodontal treatment due to its bacteriostatic and bactericidal activities, which depend on its concentration. The use of this chemical compound has been studied in a liquid solution; however, its cytotoxic effect in gingival cells of the gel presentation has not been evaluated. **OBJECTIVE:** The aim of the present research is based on evaluating the *in vitro* cytotoxic effect on gingival fibroblasts using hydrogen peroxide gels at different concentrations (0.18, 0.25, 0.38 and 0.75 %); thus, comparing the results with chlorhexidine at 0.1% in gel and with a base gel without active substance. **METHODS:** First a base gel was prepared by hydrating and gelling the carbomer polymer. Subsequently, hydrogen peroxide was incorporated according to the concentrations previously established. On the other hand, incubation of ATCC PCS-201-012 human dermal fibroblasts in DMEM was carried out, followed by the placement of the gels in the 4 experimental groups after 24 hours. Cytotoxicity was assessed by optical microscopy using the MTT assay. **RESULTS:** The hydrogen peroxide gel at the 4 concentrations was less cytotoxic compared to the 0.1 % chlorhexidine gel. The difference in cell viability of the 0.75 % peroxide gel was 17.66 % higher in comparison to the chlorhexidine gel. **CONCLUSION:** Hydrogen peroxide as an antiseptic agent for non-surgical periodontal treatment shows reduced cytotoxicity in fibroblasts compared to chlorhexidine.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal se considera una patología multifactorial crónica relacionada con los microorganismos y el hésped. En la actualidad alrededor del 60 % de la población mexicana presenta algún signo de periodontitis. La carga bacteriana de los microorganismos patógenos que se alojan en el surco gingival o bolsas periodontales se reducen con un antiséptico ideal usado como un coadyuvante del tratamiento periodontal no quirúrgico. El coadyuvante más utilizado es la clorhexidina; sin embargo, esta genera diversos efectos adversos como xerostomía, hipogeusia y descoloración de la lengua.

El peróxido de hidrógeno funciona como coadyuvante en el tratamiento periodontal. Este tiene distintas aplicaciones en el área de la odontología, ya que, presenta propiedades bacteriostáticas y bactericidas dependiendo de la concentración aplicada, lo que lleva a reducir la presencia de patógenos. No obstante, su desventaja significativa es la presentación de dicha sustancia en el mercado, ya que, se encuentra en solución, lo que dificulta su manejo en zonas localizadas. Una alternativa interesante para superar esta limitante es la formulación del peróxido de hidrógeno en gel. En este contexto, es importante conocer la citotoxicidad de dicho gel sobre tejido gingival en función de su concentración y tiempo de exposición, a fin de establecer su potencial como coadyuvante en tratamientos odontológicos.

Debido a lo anterior se llegó a la siguiente pregunta de investigación: ¿El gel de HP a cuál concentración causará efectos citotóxicos sobre fibroblastos en comparación con el gel de clorhexidina?

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto citotóxico *in vitro* sobre fibroblastos gingivales de geles de peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones (0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %); comparando los resultados con la clorhexidina al 0.1 % en gel y con el gel base, es decir, sin sustancia activa.

Las formulaciones de los geles con concentraciones distintas de peróxido de hidrógeno se realizaron en el Laboratorio de Nanotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Inicialmente, se preparó un gel base hidratando y gelificando el polímero carbomero. Posteriormente, se incorporó el peróxido de hidrógeno de acuerdo con las concentraciones ya establecidas.

El proceso para la evaluación del efecto citotóxico de los antisépticos en consistencia de gel sobre los fibroblastos se realizó en el Laboratorio de Ecología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Primero, se incubaron los fibroblastos ATCC PCS-201-012 en DMEM. Después de 24 h, se colocaron los geles de peróxido de hidrógeno en las cuatro concentraciones, el gel de clorhexidina y el gel base. La evaluación del daño celular se midió con un lector de placas utilizando MTT y DMSO 24 h después de la colocación de los geles.

Los resultados mostraron un rango de citotoxicidad del 79.45 a 76.83 % para las concentraciones del gel de peróxido de hidrógeno iniciando con una concentración del 0.18 % hasta 0.75 %. Por el contrario, el grupo control positivo (gel de clorhexidina) tuvo 88.72% de citotoxicidad. La diferencia entre la citotoxicidad del gel de peróxido de hidrógeno y el gel de clorhexidina es de 9.28 %, siendo menos citotóxico para los fibroblastos el gel de peróxido de hidrógeno.

2. HIPÓTESIS

Hi: El gel de peróxido de hidrógeno tiene menos grado de citotoxicidad sobre fibroblastos en concentración 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 % *in vitro*, en comparación con el gel de clorhexidina al 0.1 %.

Ho: El gel de peróxido de hidrógeno tiene mayor grado de citotoxicidad sobre fibroblastos en concentración 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 % *in vitro*, en comparación con el gel de clorhexidina al 0.1 %.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto citotóxico *in vitro* de geles de peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones sobre fibroblastos.

3.2 Objetivos específicos

- Elaborar geles de peróxido de hidrógeno a concentraciones del 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 % (v/v).
- Evaluar la citotoxicidad de los geles de peróxido de hidrógeno en sus diversas concentraciones, así como del gel de clorhexidina sobre fibroblastos.
- Comparar los resultados obtenidos de la citotoxicidad entre los grupos de estudio.

4. ANTECEDENTES

4.1 Tejidos periodontales

Los tejidos de soporte que rodean al diente son la encía, el ligamento periodontal, el hueso y el cemento; en particular, los tres últimos se encuentran en remodelación durante toda la vida debido a las fuerzas que impactan en los órganos dentarios. Así mismo, los tejidos periodontales soportan y mantienen las fuerzas de los dientes (H. Guo et al., 2022).

4.1.1 Encía

La encía se desarrolla embrionariamente del ectodermo, iniciando con una sola capa de epitelio proliferando hasta la décima semana a un epitelio estratificado. Las células ectomesenquimales secretan matriz extracelular y fibras de colágeno generando el tejido conectivo (Bastos et al., 2022).

Este complejo se clasifica en tres tipos: encía libre, encía interdental y encía adherida. Histológicamente se forma de 2 componentes principales, el epitelio y el tejido conectivo (Bartold et al., 2000). El epitelio escamoso estratificado queratinizado de la encía está formado por 4 capas: estrato basal, estrato espinoso, estrato granuloso y estrato córneo (Groeger & Meyle, 2019). Dicho compuesto está principalmente formado por células, mientras que en el tejido conectivo está dominado por una red de proteínas fibrosas, factores de crecimiento, minerales, lípidos y agua (Bartold et al., 2000).

4.1.1.1 Tejido conectivo

El tejido conectivo de la cavidad oral es un tejido fibroso que se ubica por debajo de la membrana basal. Se puede describir como una capa unida al epitelio por hemidesmosomas que proporciona nutrientes al epitelio y resistencia a la tracción (Gibbs, S. et al., 2019). Su función principal es proteger a la superficie radicular y hueso alveolar del ambiente

externo oral. Así mismo, auxilia en el soporte y fijación de los órganos dentarios dentro del alveolo y en el soporte del epitelio gingival (Bartold et al., 2000).

Este complejo se desarrolla a partir del ectomesénquima y contiene gran cantidad de fibras de colágeno, las cuales se dividen en 5 tipos de acuerdo con las direcciones que presentan: dentogingival, alveologingival, circular, dentoperiosteal y transeptal (Guo, H. et al., 2022).

El tejido conectivo está compuesto por lámina propia, la cual consta de dos divisiones: la capa papilar y reticular. La zona papilar se encuentra en la superficie, es firme y condensada. La capa reticular forma el área profunda del tejido conectivo y en ella se encuentran las glándulas salivales (Groeger & Meyle, 2019).

La composición del tejido conectivo consta principalmente de fibroblastos, así como de una matriz extracelular y una composición neurovascular (Bartold et al., 2000). La matriz extracelular está formada por: una red de fibras de colágeno tipo I (en su mayoría), colágeno tipo III, fibras elásticas, glucosaminoglicanos, proteoglicanos, glicoproteínas (fibronectina), factor de crecimiento epidérmico (EGF), interleucina-1, factor estimulante de colonias-1, proteína quimiotáctica monocitos-1 (Groeger & Meyle, 2019).

Por su parte, los fibroblastos se consideran las principales células del tejido blando de la cavidad oral. Su función principal es sintetizar la matriz extracelular para mantener la homeostasis, la comunicación célula-célula y la secreción de quimiocina y citocina (García, A. et al., 2020). Conforme van erupcionando los órganos dentarios, los fibroblastos se originan de la mesénquima perifolicular (Bastos et al., 2022). Los fibroblastos se diferencian en morfología, estructura, proliferación, comportamiento migratorio, síntesis de matriz, así como de su capacidad de respuesta a los factores de crecimiento y citocinas. Dichas características son elementales para la función, presencia de enfermedad y regeneración de los tejidos (Bartold et al., 2000).

Estas células cuentan con una actividad de proliferación reducida; sin embargo, su actividad metabólica es activa, ayudando así a la producción de matriz extracelular. Por lo antes mencionado, se considera que los fibroblastos se encuentran en estado de reposo y presentan características similares a las células madre mesenquimales. Estos comparten propiedades inmunomoduladoras de las células madre, como la presión de la proliferación de células T y la modulación del inmunofenotipo de macrófagos (Ichim et al., 2018).

La característica de los fibroblastos de responder a citocinas y señales físicas de las células madre mesenquimales adapta un fenotipo secretor, así como migratorio. Esto genera un nicho para las mismas células fibroblásticas y para células que se encuentren adyacentes (Avery et al., 2018). Activado el fibroblasto, modifica la arquitectura tisular, amplía la activación y el reclutamiento de células, así como la proliferación. De la misma manera, genera el proceso de cicatrización de herida, de inflamación crónica y de enfermedades fibróticas (Lombardi et al., 2017).

Los fibroblastos gingivales constituyen la lámina propia del epitelio escamoso estratificado queratinizado de la mucosa masticatoria que se encuentra en el paladar duro, encía marginal, papilar y adherida (García, A. et al., 2020).

4.1.2 Ligamento periodontal

El ligamento periodontal es un tejido blando que se localiza entre el cemento y el hueso alveolar. Su principal función es sostener y estabilizar los órganos dentarios, por medio de la resistencia al desplazamiento y distribución de fuerzas oclusales. El ligamento está formado por fibras de colágeno, principalmente colágeno tipo I, proporcionando la fuerza estructural (de Jong et al., 2017).

La formación del ligamento periodontal inicia a partir de la raíz. Entre el hueso alveolar y la vaina epitelial de Hertwing se encuentran células del folículo dentario, las cuales se dividen en células mesenquimales del folículo dentario y células mesenquimales perifoliculares; estas últimas, obtienen polaridad celular logrando la proliferación y

síntesis de las fibras de colágeno, así como de glicoproteínas. Las células en el folículo dental se diferencian en cementoblastos, fibroblastos y osteoblastos, generando la formación del cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar (Guo, H. et al., 2022).

4.1.3 Cemento

El cemento es un tejido duro que rodea la superficie radicular dentaria. Inicia su formación por medio de la vaina radicular epitelial de Hertwing la cual entra en contacto con células de la papila dental. Las células se diferencian en odontoblastos para la formación de dentina, mientras que, las células del folículo dentario, al entrar en contacto con dentina radicular, se diferencian en cementoblastos para formar el cemento (Guo Y. et al., 2018).

Esta estructura se clasifica en dos partes: cemento acelular y cemento celular. El cemento acelular se encuentra en la porción cervical llegando hasta el 1/3 apical radicular y ancla las fibras del ligamento periodontal a la superficie radicular cervical. La porción celular cuenta con presencia de cementocitos, está ubicado en el tercio apical radicular y su función se basa en adaptar el órgano dentario en su posición oclusal (Foster, 2017).

4.1.4 Hueso alveolar

El desarrollo del hueso alveolar inicia por el desarrollo de la raíz del diente, debido a las células del folículo dental, las cuales se diferencian aparte de cementoblastos y fibroblastos, en osteoblastos para formar propiamente el hueso (Yuan & Chai, 2019). Las principales células óseas son los osteoclastos encargados de la reabsorción ósea, los osteoblastos formadores de hueso nuevo y los osteocitos que mantienen la matriz mineralizada en un 90 % (Li et al., 2021).

El hueso alveolar rodea las raíces dentarias de la mandíbula y maxilares. Este se divide en: 1) el hueso alveolar que propiamente que forma el alveolo, 2) el hueso compacto o hueso cortical ubicado en la porción vestibular y lingual/palatina y 3) el hueso esponjoso/

trabeculado que se localiza entre el hueso cortical y hueso alveolar (Hathaway-Schrader & Novince, 2021).

4.2 Salud periodontal

La salud se define, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, como el bienestar completo del aspecto físico, mental y social de un individuo y no solo a la ausencia de enfermedad (Leonardi, 2018).

Hablando propiamente de la salud periodontal, ésta se define como el estado libre de inflamación por enfermedad periodontal. Existen tres determinantes clínicos para evaluar el estado de salud periodontal, las cuales incluyen factores microbiológicos, al huésped y factores ambientales (Lang & Bartold, 2018).

La salud gingival clínica se divide en periodonto intacto y periodonto reducido. El periodonto intacto se caracteriza por ausencia de sangrado al sondaje, eritema y edema, con un nivel óseo de 1.0 a 3.0 mm apical a la unión cemento esmalte. El periodonto reducido refiere a un paciente periodontalmente estable, así como, a un paciente sin relación con periodontitis, pero con presencia de recesiones o longitud coronaria; en caso de presentar clínicamente las características antes mencionadas, existe un incremento en riesgo de presentar periodontitis recurrente (Chapple et al., 2018).

4.3 Clasificación de enfermedades periodontales

En el año 2017 la Academia Americana de Periodoncia (AAP) y la Federación Europea de Periodoncia (EFP) determinaron la nueva clasificación de las enfermedades periodontales. La clasificación es elemental para los clínicos, ya que, brinda las herramientas para diagnosticar propiamente y realizar un plan de tratamiento (Caton et al., 2018).

4.3.1 Gingivitis inducida por placa

La gingivitis es considerada como una condición inflamatoria en una zona específica iniciada por una acumulación de biopelícula, causando edema y eritema gingival sin presentar pérdida de inserción clínica (Trombelli et al., 2018).

El inicio de gingivitis sucede por almacenamiento sin interrupción o remoción de *biofilm*, debido a la pérdida de simbiosis entre biopelícula y respuesta inmunoinflamatoria del huésped, así como al desarrollo de una disbiosis (Murakami et al., 2018).

El diagnóstico de la gingivitis consiste en la identificación de signos clínicos y síntomas que el paciente presente. Clínicamente los signos que se observan son inflamación, leve molestia y sangrado al sondeo, así como eritema. Los síntomas comunes son dolor, sangrado de encías con sabor metálico, halitosis, apariencia de encías eritematosas y reducción de calidad de vida en relación a la salud oral (Chapple et al., 2018).

4.3.2 Periodontitis

De acuerdo con el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) del 57.9 % de la población mexicana adulta (20 a 99 años) presenta algún signo de enfermedad periodontal. Dentro de este porcentaje el 21.8 % tienen gingivitis, detectada por medio de hemorragia al sondeo, el 3.5 % presenta signos de enfermedad periodontal leve con bolsas superficiales y el 0.7 % cuenta con signos de enfermedad periodontal avanzada con bolsa periodontales profundas (SIVEPAB, 2018).

La periodontitis es una enfermedad multifactorial inflamatoria crónica mediada por el huésped y relacionada con microorganismos (Tonetti et al., 2018). Es iniciada por una disbiosis del *biofilm*, generando una pérdida de inserción en tejidos periodontales. La

respuesta del huésped se establece por diversos factores de riesgo como: el genético, el epigenético, el estilo de vida, los ambientales y los de comportamiento. La periodontitis no es una enfermedad que se cure, pero se puede mantener para prevenir el deterioro futuro. Se considera periodontitis cuando el paciente presenta más del 10 % de sangrado al sondaje y presencia de bolsas periodontales mayores a 4 mm (Dukka et al., 2022).

Las características principales de la periodontitis incluyen la pérdida de soporte de tejido periodontal, una pérdida de inserción clínica, una pérdida ósea alveolar, presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival, siendo esto provocado principalmente por la biopelícula. Los pacientes que padecen dicha enfermedad presentan una pérdida de inserción clínica interdental de más de 2 dientes no adyacentes o una pérdida de inserción clínica en área vestibular de más o igual a 3 mm con bolsas periodontales de 3 mm detectado por lo menos en 2 dientes. (Tonetti et al., 2018).

4.3.2.1 Diagnóstico

De acuerdo con la fisiopatología, existen tres diferentes formas de periodontitis. Éstas son: 1) la periodontitis necrotizante, 2) la periodontitis como manifestación directa de enfermedades sistémicas y 3) la periodontitis. La clasificación propiamente de periodontitis, donde no están influenciado factores sistémicos, se caracteriza por utilizar un sistema de estadificación y clasificación donde se describe la presentación clínica, así como, aspectos que alteran el manejo clínico, el pronóstico y las influencias en la salud oral y sistémica (Papapanou et al., 2018).

Las etapas de la periodontitis se basan en la gravedad y en su complejo manejo. Éstas se dividen en 4 tipos. El estadio I (etapa inicial) representa las primeras etapas de la pérdida de inserción debido a la persistencia de inflamación gingival y disbiosis de biopelícula (Tonetti et al., 2018). Se presenta una pérdida de inserción clínica interdental de 1 a 2 mm, una pérdida de hueso en el tercio coronal de menos del 15 % y sin pérdidas de órganos dentarios debido a la periodontitis. La complejidad mediada localmente,

presenta una profundidad de bolsas menores o iguales a 4 mm y una pérdida ósea predominantemente horizontal (Sanz et al., 2020).

El estadio II se considera una periodontitis moderada. Presenta una pérdida de inserción clínica interdental de 3 a 4 mm, pérdida ósea en tercio coronal del 15 al 33 %, sin pérdida de órganos dentarios, profundidad de sondaje de 5 mm o menos y pérdida ósea horizontal mayormente (Sanz et al., 2020).

El estadio III se describe como una periodontitis grave con potencial adicional a la pérdida de órganos dentarios. Clínicamente los pacientes cuentan con una pérdida de inserción mayor o igual a 5 mm en zona interproximal, radiográficamente se muestra una pérdida ósea en el tercio medio o apical de la zona radicular. Presenta pérdida de menos de 4 dientes debido a la enfermedad periodontal. Profundidad de sondeo mayor o igual a 6 mm, pérdida ósea vertical, involucramiento de furca clase II o III y defecto de cresta moderada. (Papapanou et al., 2018).

La periodontitis avanzada con extensa pérdida de dientes se clasificada como estadio IV. La pérdida de inserción clínica y el aspecto radiográfico es semejante al estadio III; sin embargo, se involucra pérdida dental mayor de 5 piezas, en conjunto con disfunciones masticatorias, efecto severo de la cresta y menos de 20 órganos dentarios remanentes (Tonetti et al., 2018).

Aunado a los estadios, la nueva clasificación organiza el ritmo de progresión en 3 grados (A, B, C). El discernimiento principal para clasificarlos consta en la evidencia directa o indirecta de la evolución periodontal. La evidencia directa se utiliza siempre se esté presente, mientras que, la indirecta consta de una estimación empleando el método radiográfico para valorar la pérdida ósea en función a la edad. Grado A cuenta con una lenta degradación, grado B progresión moderada, mientras que, el grado C describe una rápida degradación (Sanz et al., 2020).

4.4 Tratamiento periodontal

La terapia periodontal busca preservar, mejorar y mantener la dentición propia del paciente (Van der Weijden et al., 2019). El objetivo principal es controlar la infección y detener la inflamación ocasionada por los microorganismos patógenos alojados en las superficies supra y subgingivales (Haas et al., 2021). Por lo antes descrito, se busca controlar la gingivitis y periodontitis evitando la progresión de la enfermedad, pérdida de órganos dentarios, conservación de una dentición funcional, preservar el autoestima y por ende mejorar la calidad de vida (Yan et al., 2020).

4.4.1 Tratamiento periodontal no quirúrgico

El tratamiento periodontal consta de cuatro fases principales: 1) Fase sistémica 2) Fase higiénica, 3) Fase correctiva y 4) Fase de mantenimiento. En la fase sistémica se evalúa la posible presencia de enfermedad sistémica, en la fase higiénica se busca obtener higiene oral, durante la fase correctiva se realizan procedimientos quirúrgicos en pacientes selectivos y, por último, la fase de mantenimiento tiene como finalidad la prevención de recurrencia de la enfermedad periodontal (Tijerina et al., 2020).

4.4.1.1 Control de placa bacteriana

La higiene oral es elemental para la prevención de la enfermedad periodontal, para el éxito del tratamiento, así como para la retención de órganos dentarios en un periodo largo de tiempo. El control de placa se realiza al inicio del tratamiento y, en cada consulta a la que acuda el paciente se refuerza la técnica de cepillado y se obtiene el índice de placa presente en la cavidad oral (Kwon et al., 2021).

4.4.1.2 Raspado y alisado radicular

El raspado y alisado radicular consta de la remoción profesional de placa y cálculo dental supra y subgingival (Kwon et al., 2021). Los instrumentos utilizados se dividen en

manuales (curetas y raspadores) y en escariadores ultrasónicos. Ambos mecanismos funcionan efectivamente para la remoción del cálculo; sin embargo, la combinación de ambos potencializa positivamente los resultados del tratamiento. El periodo de espera para la cicatrización es de 4 a 6 semanas posterior al raspado y alisado radicular (Kinane et al., 2017).

4.5 Coadyuvantes quimioterapéuticos

Existen diversos complementos para mejorar los resultados del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los coadyuvantes que se administran son medicamentos utilizados localmente, antibióticos sistémicos y agentes que generan modulación sistémica del huésped como, por ejemplo, los antisépticos (Kinane et al., 2017). El principal beneficio de la colocación de coadyuvantes es la producción de mediadores protectores endógenos (como las resolvinas), así como la actividad antiinflamatoria que conlleva a la resolución de inflamación (Kwon et al., 2021).

Los antisépticos son agentes antimicrobianos que se utilizan para reforzar el manejo mecánico de la biopelícula. Se pueden colocar en superficies supragingivales, como también subgingivales (Arweiler et al., 2018). La irrigación subgingival tiene el objetivo de expeler la biopelícula no adherida a la superficie, diluir la toxicidad de la placa e interferir con la maduración de la biopelícula, reduciendo así la microflora de la bolsa periodontal. El método para dispensar el antiséptico debe incluir una punta de irrigación utilizando una ligera fuerza. La inducción del compuesto es del 90 % en bolsas con una profundidad de ≤ 6 mm, mientras que en bolsas de 6.5 a 10.5 mm reduce un 10 % (Arweiler et al., 2018).

4.5.1 Clorhexidina

La clorhexidina (CHX) es un agente biocompatible que, generalmente, se usa como antiséptico oral tanto en ámbito odontológico (Brookes, Z. et al., 2020). Se utiliza con el fin de prevenir el *biofilm* bacteriano y la acumulación de placa, ayudando a reducir las

caries, gingivitis inducida por placa, periodontitis y algunas enfermedades tisulares de la mucosa oral (Janakiram et al., 2020).

Se considera un agente eficaz para reducir la carga de microorganismos patógenos. La concentración ideal de la solución es de 0.2 % con alcohol (Arweiler et al., 2018). Este antiséptico presenta diversos efectos en bacterias, virus y hongos, por lo que, el beneficio clínico varía en las diversas enfermedades orales (Janakiram, C. et al., 2020).

4.5.1.1 Compuesto

La CHX, conocida también como gluconato de clorhexidina, es una sal de gluconato compuesto por una biguanida. Su fórmula química es 1,1'-hexametileno bi [5-(p-clorofenil) biguanida] di-D-gluconato. La CHX se comercializa en presentaciones con alcohol o sin alcohol y a concentraciones que varían de 0.2, 0.6 y 0.12 % para los colutorios, mientras que, para geles se encuentran concentraciones de 1, 0.2 y 0.5 %. Dicha concentración varía de acuerdo con el tipo y severidad de enfermedad a tratar. (Brookes, Z. et al., 2020).

4.5.1.2 Mecanismo de acción

La CHX es un antiséptico de amplio espectro que opera contra las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, tanto aeróbicas como anaerobias facultativa y hongos, principalmente, debido a que aumenta la permeabilidad de la pared celular bacteriana, generando un lisis (Vergara-Buenaventura & Castro-Ruiz, 2020). La CHX se considera, tanto bacteriostático, como bactericida (Fiorillo, L. 2019).

4.5.1.3 Indicaciones y contraindicaciones

La CHX es indicada para su uso cuando hay presencia de *biofilm*, cálculo, gingivitis inducida por cálculo, periodontitis, periimplantitis, abscesos periodontales, coadyuvante en raspados y alisados radiculares, cuidados postoperatorios y complicaciones

quirúrgicas, deficiencia de higiene oral del paciente y reducción de la carga durante los procedimientos dentales (Brookes, Z. et al., 2020).

Las contraindicaciones se presentan para los pacientes alérgicos al componente, pacientes que desarrollaron un efecto secundario negativo afectando alguna función o estructura biológica, irritación de la mucosa oral; también es contraindicada en mujeres embarazadas y cuando el paciente generó resistencia a la CHX limitando su mecanismo de acción (Cieplik, F. et al., 2019).

4.5.1.4 Ventajas y desventajas

Como se mencionó anteriormente, la CHX presenta ventajas en base a la prevención de la formación de *biofilm* bacteriano, generando reducción en enfermedades orales como caries, gingivitis y periodontitis (Brookes, Z. et al., 2020). Actúa como bactericida y bacteriostático (Fiorillo, L. 2019).

Algunas de las desventajas que presenta este agente antimicrobiano es que genera una tinción amarilla, marrón o negra de los dientes, lengua y restauraciones (Arweiler et al., 2018). Así mismo, es posible causar xerostomía, hipogeusia (alteración del sentido del gusto) y descoloración de la lengua. Con menor frecuencia se puede presentar glosodinia (sensación de quemadura), descamación de la mucosa oral, inflamación de la parótida y/o parestesia (Swaij, B. et al., 2020).

4.5.2 Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno (PH) es un agente oxidante inestable ya que reacciona al contactarse con materia orgánica oxidable y en soluciones alcalinas produciendo radicales de hidroxilo libres, los cuales reaccionan con lípidos, proteínas y ADN (Lin, K. 2019). Fue sintetizado por primera vez en 1818 por Luis Jacques Thénard cuando colocó ácido nítrico reaccionando con peróxido de bario. El PH se ha utilizado en el área médica por años con el fin de desinfectar e irrigar lesiones (Urban, M. et al., 2019). Se han encontrado

diversas áreas laborales donde su uso es importante, incluyendo la medicina, el área nutricional y las aplicaciones industriales (Ríos-Castillo et al., 2017).

El PH se ha descrito como un compuesto inestable que se descompone en agua y en radicales oxidativos. Es altamente soluble en agua, brindando una solución ácida que depende de la concentración del PH. Una concentración al 1 %, brinda un valor de pH de 5-6 (Alkahtani et al., 2020).

4.5.2.1 Compuesto

El PH se presenta de color azul claro en la solución más pura. En una solución diluida se observa un líquido incoloro e inodoro, compuesto únicamente por dos tipos de átomos: hidrógeno y oxígeno. Su forma molecular que presenta es H_2O_2 (Urban et al., 2019).

El H_2O_2 forma radicales libres, en especiales radicales hidroxilos, cuando se generan las reacciones oxidativas (Lin, 2019). Debido a lo descrito, los componentes celulares se desnaturalizan. (Ríos-Castillo et al., 2017).

4.5.2.2 Mecanismo de acción

El PH brinda una eficacia de amplio espectro contra bacterias Grampositivas y Gramnegativas, esporas bacterianas, virus y levaduras (Lin, 2019). El 80 % de los colonizadores orales son estreptococos, esta familia de bacterias utilizan oxidasas para producir peróxido de hidrógeno (Keke et al., 2017).

Este antiséptico juega un rol importante para el balance del microbiota oral, ya que modula el desarrollo de la biopelícula, generando una inhibición en el crecimiento de la misma (Keke et al., 2017). El mecanismo responsable del efecto antimicrobiano, es la fractura de la cadena ADN por la oxidación del ADN debido a especies reactivas de oxígeno que son liberada por la degradación del PH (Urban et al., 2019).

El PH puede ser inactivado por catalasas y peroxidasas por organismos aeróbicos y anaerobios facultativos; sin embargo, esta defensa bacteriana puede ser suprimida con el uso de concentraciones suficientemente altas de hidrógeno por óxido (Ríos-Castillo et al., 2017).

4.5.2.3 Indicaciones y contraindicaciones

El uso del PH se indica en casos donde el paciente presenta una alta carga bacteriana, presencia de un proceso infeccioso o de placa dentobacteriana. Incluso se puede utilizar para el control de una hemorragia (Urban et al., 2019).

La contraindicación para este compuesto son pacientes alérgicos al compuesto, pacientes embarazadas o en estado de lactancia (Imai et al., 2018).

4.5.2.4 Ventajas y desventajas

El PH tiene la ventaja de ser una solución antiséptica y antibacterial por su acción bactericida y bacteriostática. Así mismo, realiza trabajo de homeostasia en presencia de sangrado excesivo, ayuda a la cicatrización de una herida contribuyendo en el proceso de inflamación, factor de crecimiento y reepitelización (Urban et al., 2019).

Entre sus desventajas, se ha demostrado que la exposición a altas concentraciones de PH puede causar daño a los tejidos orales blandos y duros. La incorrecta aplicación del PH o abuso de este durante los procedimientos de desinfección intraoral puede generar efectos adversos como quemaduras (Lin, 2019).

4.5.2.5 Uso en odontología

El PH se ha utilizado por más de 100 años en el área de la odontología. En 1930, se inició el uso para el control de formación de placa dentobacteriana (Gomathi, G., 2020). Se ha utilizado el PH al 3 % como porcentaje promedio para el uso intraoral, dependiendo del tratamiento a realizar. El principal uso en odontología ha sido como coadyuvante para

mantener y cuidar la higiene oral de los pacientes, ya sea en procedimientos quirúrgicos, raspados y alisados radiculares o simplemente como colutorio (Marshall et al., 1995). Este compuesto se utilizó de igual manera, como agente blanqueador y se encuentra presente dentro de las pastas dentífricas. (Alkahtani et al., 2020). Se ha mostrado que en concentraciones elevadas y por un periodo largo de tiempo, el PH puede generar toxicidad oral localizada (Marshall et al., 1995).

Actualmente, en Periodoncia, se ha incorporado el uso de PH en gel con diferentes concentraciones. El motivo de su uso es que la oxigenación de la bolsa periodontal, al tener contacto con peróxido de hidrógeno, modifica el microambiente presentando anaerobios grampositivos en lugar de anaerobios gramnegativos (Keller & Buechel, 2017). Con el producto de nombre Perio Tray®, se ha utilizado PH a una concentración de 1.7 %, durante 15 min por 2 semanas, lo que llevo a reducir la profundidad de bolsa, así como, el sangrado al sondaje (Putt et al., 2012). Otros autores han utilizado el gel por un periodo de 10 min (Cochrane & Sindelar, 2015) o 15 min repitiendo la aplicación 2 o 4 veces al día, obteniendo un tiempo de exposición total de 30 o 60 min por día. (Putt et al., 2014)

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio comparativo, abierto, experimental, prospectivo y transversal.

5.2 Universo del estudio

Se realizó un ensayo *in vitro* enfocado en la evaluación de antisépticos, los cuales constaron de geles de peróxido de hidrógeno a diferentes concentraciones (0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %, v/v), gel de clorhexidina al 0.1 % y gel sin sustancia activa (sin peróxido de hidrógeno) como grupo control negativo.

5.3 Tamaño de la muestra

En el estudio comparativo para evaluar la citotoxicidad del gel de peróxido de hidrógeno se obtuvieron 3 grupos muestra. El primero es el experimental, incluyendo los geles de peróxido de hidrógeno al 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 % (v/v). El control positivo incluyó el gel de clorhexidina al 0.1 % y el grupo control negativo constó del gel sin sustancia activa. Las pruebas del estudio se realizaron por septuplicado.

5.4 Criterios de selección

Los criterios de inclusión constaron de: gel puro de carbomero con tritanolamina como vehículo, peróxido de hidrógeno al 30 % (v/v) (Sigma Aldrich), clorhexidina al 0.2 % y fibroblastos dérmicos humanos ATCC PCS-201-012. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: cultivo de fibroblastos de cepa diferentes a la seleccionada, así como concentraciones de gel de peróxido de hidrógeno distintas a las seleccionadas. Los criterios de eliminación se constituyeron de muestras donde se excedía el tiempo de

exposición del gel de peróxido de hidrógeno en los fibroblastos y cultivos celulares que se contaminaron durante el proceso de manipulación.

5.5 Descripción de procedimientos

5.5.1 Formulación de las concentraciones en gel

Preparación del gel base

Se pesó 1 g de carbomero con 3,000,000 de unidades por cadena y se dispersó en 99 ml de agua estéril bajo agitación magnética hasta la completa incorporación del polímero. Posterior a la agitación, la dispersión presentó un aspecto turbio y de baja viscosidad. A continuación, se preparó una solución de trietanolamina y se incorporó, bajo agitación mecánica, a la dispersión de polímero hasta que se obtuvo un gel translúcido con alta viscosidad.

Preparación de geles con peróxido de hidrógeno

Se tomaron 9 g de gel sin sustancia activa (gel base) y se incorporó el volumen necesario del reactivo de peróxido de hidrógeno (Sigma Aldrich) hasta que se obtuvo una concentración de 0.75 % de peróxido de hidrógeno en el gel. Se agitó durante varios minutos garantizando la distribución homogénea del peróxido de hidrógeno en el gel. Dicho procedimiento se repitió con otras muestras de 9 g de gel, agregando diversos volúmenes del reactivo de peróxido de hidrógeno para obtener geles en concentraciones de 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 % (v/v). En cada muestra se adicionó agua estéril hasta obtener el peso final de 10 g de gel. Se dejó reposar el producto dos horas que posteriormente se utilizó en los ensayos *in vitro* para viabilidad celular de fibroblastos.

5.5.2 Incubación de fibroblastos

Día 1: Se preparó Tripsina al 10X diluyendo 1 volumen de 9 ml de PBS y 1 ml de Tripsina. Se atemperó la tripsina hasta que se observó dicho material de color cristalino. Se colocó en un tubo de ensayo de 50 ml, 44.5ml de DMEM previamente preparado, 0.5 ml de antibiótico y 0.5 ml de suero, obteniendo un volumen total de 50ml.

Se extrajo la caja del cultivo, se retiró todo el CO₂ y el medio de la incubadora, se agregaron 2 ml de PBS y se distribuyó lentamente, colocándose del lado opuesto de la tapa. Se volteó posteriormente y se retiró el PBS. Se colocó 1 ml de Tripsina directamente a las células y se introdujo a la incubadora por 5 min. Pasando este tiempo, se observó una consistencia grumosa/condensada visualizada a contra luz. Se neutralizó el medio de cultivo preparado en relación 1:1 (1 ml de cultivo por cada ml de Tripsina). Se disgregó lentamente con uso de pipeta.

Posteriormente, se colocó 1 tubo de 15 ml estéril, se centrifugó a 600 rpm durante 5 minutos y se retiró el sobrante. Del pellet se tomó 1 ml de medio y se pipeteó lentamente para re suspender suavemente. Se tomaron 10 µl del concentrado y 10 µl de Azul Tripano. Se colocó 10 µl de la combinación, se observó en el microscopio 5000 células por ml, la cantidad ideal para realizar el estudio. El volumen final de cada pozo fue de 100 µl, 55.5 µl de células y 44.5 µl de diluyente. Se colcó el contenido en un tubo madre y se incubó por 24 h.

5.5.3 Colocación de geles a cultivo

Día 2: Se extrajeron las células de la incubadora y se observaron en el microscopio para el control. Se colocaron los 100 de la muestra de fibroblastos y 100 µl del gel de peróxido de hidrógeno en las concentraciones establecidas (0.18, 0.25, 0.3% y 0.75 %) el gel de clorhexidina al 0.1% para el grupo control positivo y gel sin sustancia activa para el grupo control negativo.

5.5.4 Evaluación de citotoxicidad

Se retiró la solución posterior a 24 h de incubación a 37 °C y se colocó 100 µl de DMEM con MTT. Se colocó nuevamente en la incubadora a una temperatura de 37 °C grados y 5 % de CO₂ durante 4 horas. Una vez formados los cristales, se retiró el medio y se colocaron 100 µl de DMSO, se adicionó el MTT y se transportó al lector de placas para su evaluación.

5.6 Análisis Estadístico

La captura de datos y presentación de resultados se realizó por medio del programa excel. El modelo estadístico analítico del presente proyecto consiste en la aplicación de la prueba de Repetibilidad y Reproducibilidad (R&R) utilizando la incertidumbre de medición con la siguiente fórmula.

$$u_{BTem} = \frac{\Delta T x V x \beta}{\sqrt{3}}$$

Con la prueba antes mencionada se evaluó el índice de confianza y grado de precisión del estudio.

El porcentaje de citotoxicidad se evaluó con la siguiente fórmula una vez obtenida la lectura microscópica:

$$\% \text{ citotoxicidad} = 100 - \left\{ \left[\frac{(\text{Muestra} - \text{Control positivo})}{(\text{Control negativo} - \text{Control positivo})} \right] \times 100 \right\}$$

5.7 Consideraciones Éticas

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud":

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, investigación sin riesgo, no requiere consentimiento informado.

Título segundo, Capítulo VI De la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos artículos 59 (obtención, conservación, utilización preparación suministro y destino final.) y 60 (además del debido respeto al cadáver humano, la observación del título decimocuarto en cuanto a la materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos.).

6. RESULTADOS

En el presente estudio se comparó la citotoxicidad del gel de PH y el gel de clorhexidina en fibroblastos. Las concentraciones utilizadas del PH fueron 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %. Las 4 concentraciones formaron parte del grupo experimental. El grupo control positivo constó de gel de clorhexidina al 0.1 % y el grupo control negativo de gel sin sustancia activa. El tiempo de exposición fue de 24 h para permitir el crecimiento celular.

6.1 Análisis de laboratorio

En el análisis de laboratorio que se realizó, se utilizaron geles a concentraciones de 0.7, 1, 1.5 y 3 %, que pasaron a ser diuidas al tomar dichas muestras con la micropipeta y al entrar el medio de cultivo celular, obteniendo las concentraciones deseadas de 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %. (ver tabla 1)

Tabla I: Resultados de crecimiento y reducción celular en relación con el medio de cultivo celular.

Tratamiento	Lectura	Porcentaje de crecimiento celular respecto al MOCK	Porcentaje de reducción celular respecto al MOCK
Medio celular (MOCK)	1.083980	100.00	0.00
CHX	0.122217	11.27	-88.73
0.750 %	0.222786	20.55	-79.45
0.375 %	0.226000	20.85	-79.15
0.250 %	0.248350	22.91	-77.09
0.175 %	0.251200	23.17	-76.83
Vehículo	0.714440	65.91	-34.09

6.1.1 Resultados de la viabilidad celular en relación el medio de cultivo celular

Como grupo experimental se utilizaron muestras del gel de PH de concentraciones del 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %. Dichas concentraciones mostraron los porcentajes de viabilidad celular con respecto al medio de cultivo de un 23.17 % a 20.55 %, siendo menos citotóxico el gel de menor concentración (0.18 %). En relación al grupo control positivo (CHX) este mostró el menor porcentaje de viabilidad celular con un porcentaje de 11.27 % en relación al medio de cultivo celular. En cuanto al grupo control negativo (vehículo) a pesar de no contar con sustancia activa, mostró una reducción de viabilidad celular de un 32.09 % brindando un valor del crecimiento celular del 65.91 % (ver Figura I).

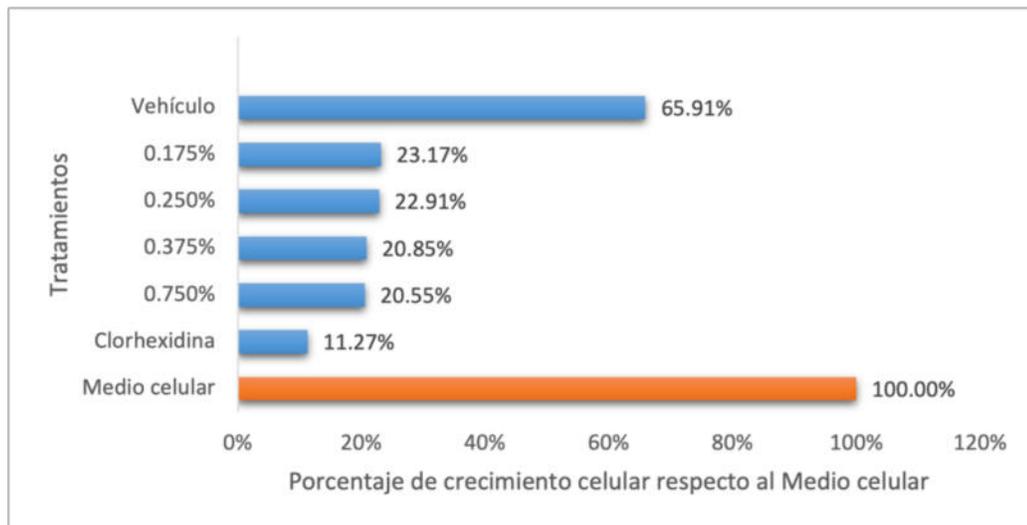


Figura 1: Viabilidad celular en relación al medio de cultivo celular

6.1.2 Resultados de la reducción celular respecto al medio de cultivo celular

La reducción celular dicta la citotoxicidad de los grupos en relación al medio de cultivo celular. El grupo control experimental mostró porcentaje de 76.83 a 79.45 %, teniendo relación con la concentración de PH en el gel y la reducción celular (Figura II). A mayor concentración de PH, mayor reducción celular. Cabe señalar, que el mayor porcentaje de citotoxicidad se presentó con la CHX (control positivo) con un valor de 88.73 %. Un factor influyente fue el vehículo, a pesar de no contar con sustancia activa, mostró un porcentaje de 34.09 %. Entre el grupo control positivo y el gel de PH a una concentración de 0.75 %, se presentó una diferencia de 9.28 % de citotoxicidad.

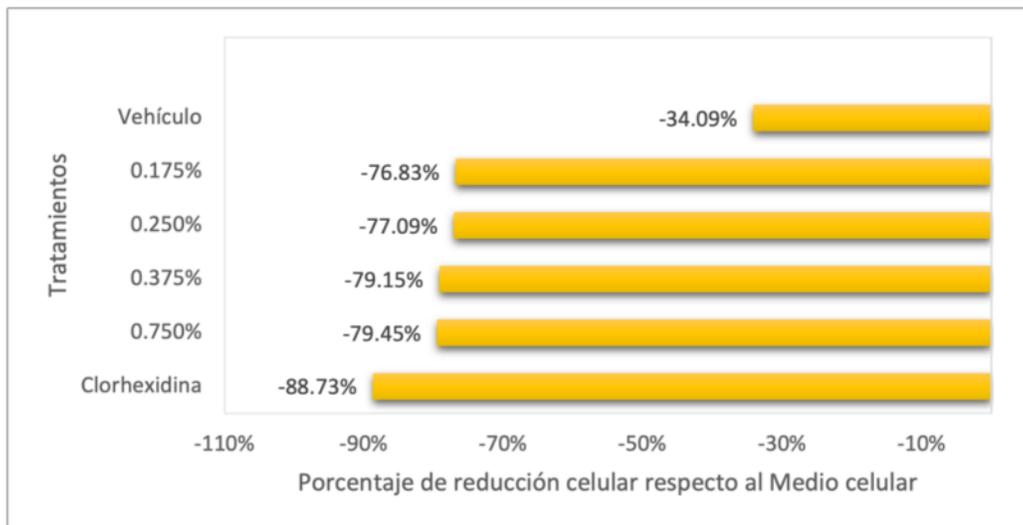


Figura 2: Citotoxicidad en relación al medio de cultivo celular

6.1.3 Comparativa grupo control positivo y grupo experimental

De acuerdo con la información proporcionada en los apartados anteriores, se realizó la comparativa de resultados del grupo control positivo (CHX) y los grupos experimentales (geles de PH) para determinar el porcentaje de citotoxicidad del gel de PH en relación con la CHX. Se toma en referencia el 100 % de citotoxicidad de la clorhexidina para determinar el porcentaje del PH. Para el gel de mayor concentración del PH (0.75 %) se obtuvo que dicha muestra es un 17.66 % menos citotóxico con respecto al gel de CHX al 0.1 % (Tabla 2).

Tabla II: Comparativa de viabilidad y citotoxicidad en relación a la clorhexidina

	CHX	PH 0.75 %
Viabilidad	11.27 %	20.55 %
Δ	9.28%	
Citotoxicidad en relación a CHX	100 %	82.34 %
Viabilidad en relación a CHX	0 %	17.66 %

7. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron porcentajes de citotoxicidad de diversas concentraciones de geles de PH comparándolos con CHX, gel vehículo y medio de cultivo celular. Se decidió utilizar las concentraciones de 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 % (v/v), ya que, en el estudio publicado por la Dra. Alejandra Baltazar (2021), geles con bajos porcentajes de PH presentaban inhibición bacteriana contra el microorganismo *A.actinomycescomitans* igual o mayor que el gel de CHX.

Distintos artículos se han publicado acerca de la citotoxicidad de antisépticos como la CHX y el PH. El equipo de Manuel Rueda realizó un estudio *in vitro* comparando diversos antisépticos en fibroblastos dérmicos. Se evaluó la viabilidad celular, necrosis, apoptosis y apoptosis tardía. Después de 24 h, los resultados de exposición a antisépticos mostraron que la CHX al igual que el PH generaron necrosis en dichas células. Sin embargo, ambas soluciones mostraron mayor viabilidad celular en comparación a hexetidina, povidona yodada, eosina y hexetidina (Rueda-Fernández et al., 2022).

En el año 2020, Sruthy Madhusudanan y Ambili Renjith publicaron en la revista *Journal of Clinical and Diagnostic Research* un estudio *in vitro* realizado en el Departamento de Periodoncia de la universidad de PMS Collage and Dental Sciences and Research ubicada en Thiruvananthapuram, India. En el estudio compararon el efecto citotóxico de clorhexidina al 0.12 y 0.2 %, peróxido de hidrógeno al 3 %, povidona yodada al 2 % y solución salina al 0.09 % a las 24 h de exposición. Los resultados mostraron que la solución salina obtuvo una viabilidad celular del 87.11 % y la povidona yodada un 73.71 %. La CHX en ambas concentraciones y el PH obtuvieron una viabilidad alrededor del 24 % (Madhusudanan & Renjith, 2020).

En la presente investigación se comparó la citotoxicidad de geles de PH con concentraciones de 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75 %, contra el gel de CHX al 0.1 %. Como en el

estudio de Madhusudanan y Renjith del año 2020, el PH presentó porcentajes de citotoxicidad de 23.17 a 20.55 %, semejantes al 24 % que los autores publicaron.

En el estudio publicado por la Dra. Alejandra Baltazar, el efecto antimicrobiano del gel de PH de 0.75 % presentó una inhibición bacteriana mayor que la CHX teniendo más de 4 cm de inhibición en comparación a 2.5 cm de la CHX. Las concentraciones de geles de PH menores a 0.5 % mostraban inhibición similar a CHX.

De acuerdo con los resultados del presente estudio, se confirmó que el PH a una concentración de ≤ 0.75 % presenta menor porcentaje de citotoxicidad celular en fibroblastos en comparación con el gel CHX al 0.2 %. La diferencia de viabilidad celular entre el gel de PH a 0.75 % y CHX es del 9.8 %. La viabilidad celular del PH en relación con la CHX es del 17.66 %, reflejando que el gel de PH es menos citotóxico que la CHX en un 17.66 % (tabla 2).

El autor Marks Putt publicó en el año 2012 un estudio donde utilizan el Perio Tray[®], un producto que consta de un gel de PH a una concentración de 1.7 % como coadyuvante de la enfermedad periodontal, comparando el raspado y alisado convencional con el raspado y alisado radicular con la colocación de PerioTray[®]. Este gel se colocó con una frecuencia de 4 veces al día por 15 min hasta alcanzar los 3 meses con el uso de un guarda. Los parámetros clínicos fueron más favorables en el grupo de pacientes donde se realizó el alisado radicular en conjunto con el gel de PH. La profundidad de bolsa bajo en grupo experimental 1.57 mm mientras que el grupo control redujo solo 0.58 mm. En cuanto al sondaje el grupo control bajo 0.03 (de 15 % a 12 %) y en el grupo experimental 0.14 (de 23 % a 9 %) (Putt et al., 2012).

El mismo autor en año 2014 publicó un estudio donde compararon 3 tratamientos periodontales: 1) raspado y alisado radicular, 2) raspado y alisado radicular con PerioTray[®], 3) raspado y alisado radicular con PerioTray[®] y doxiciclina. El gel de PH se colocó 15 min 4 veces al día por dos semanas; posteriormente, bajo la frecuencia de 2 veces por día hasta concluir con los 6 meses de evaluación. Los resultados entre el grupo

del PerioTray® en conjunto con doxiciclina y el grupo de PerioTray® mostraron resultados positivos, reduciendo la bolsa >1.10 mm, mientras, que el grupo control donde solo se realizó el raspado y alisado radicular redujo 0.38mm. En cuanto al sangrado al sondaje, para los dos grupos experimentales se mostró mayor reducción en comparación al grupo control (Putt et al., 2014).

Actualmente, la casa comercial Geistlich sacó al mercado el producto *Pocket-X-Gel*, el cual consta de un gel termosensible que contiene 0.8 % de ácido oligo hialurónico combinado con un sistema de conservación de octenidina 0.625 % y fenoxietanol (Ariel et al., 2022). El gel *Pocket-X* es utilizado como coadyuvante para la terapia periodontal no quirúrgica, así como, para la fase de mantenimiento. Actúa previniendo la recolonización bacteriana y mejorando la cicatrización de la encía (Geistlich, 2023). Estudios han identificado que reduce el sangrado al sondaje en un 15 % posterior a 6 meses de aplicación y reducción de bolsas periodontales en un 46 % en bolsas iniciales de 5-6 mm, en comparación con las bolsas periodontales tratadas solo con raspado y alisado radicular. Se ha mostrado reducción de >1 mm de reducción de la profundidad media de la bolsa y casi 1.5 veces más que el raspado y alisado solo a los 6 meses posterior al tratamiento (Ariel et al., 2022).

8. CONCLUSIONES

Con los resultados plasmados en la presente investigación se muestra que, el peróxido de hidrógeno a una concentración de 0.18 , 0.25, 0.38 y 0.75 % presentan menor porcentaje de citotoxicidad en fibroblastos que el gel de clorhexidina al 0.1%. El gel de peróxido de hidrógeno al 0.75 % es 17.66 % menos citotóxico en relación con el gel de clorhexidina al 0.1 %.

Teniendo en cuenta las hipótesis presentadas en dicho documento, se mostró asertiva la hipótesis de investigación, confirmando que el gel de peróxido de hidrógeno tiene menos grado de citotoxicidad sobre fibroblastos en concentración 0.18, 0.25, 0.38 y 0.75% *in vitro*, en comparación con el gel de clorhexidina al 0.1 %.

9. LITERATURA CITADA

Alfonso, S., Parada, M., & Arboleda, D. (2020). The phenotype of gingival fibroblasts and their potential use in advanced therapies. *European Journal of Cell Biology*, 99(7), 151123.

Alkahtani, R., Stone, S., German, M., & Waterhouse, P. (2020). A review on dental whitening. *Journal of Dentistry*, 100, 103423.

Ariel, H., Kahn, A., Hila, Z., Anton, S., Natan, G., & Kolerman, R. (2022). A thermosensitive gel with an active hyaluronic acid ingredient that contains an octenidine preservation system as an adjunct to scaling and root planning: A randomized prospective clinical study. *Clinical Oral Investigations*, 26(4), 3721-3733.

Arweiler, N., Ausschill, T., & Sculean, A. (2018). Patient self-care of periodontal pocket infections. *Periodontology 2000*, 76(1), 164-179.

Avery, D., Govindaraju, P., Jacob, M., Todd, L., Monslow, J., & Puré, E. (2018). Extracellular matrix directs phenotypic heterogeneity of activated fibroblasts. *Matrix Biology*, 67, 90-106.

Bartold, P, Walsh, L., & Narayanan, A.(2000). Molecular and cell biology of the gingiva: Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontology 2000*, 24(1), 28-55.

Bastos, V., Gomez, R., & Gomes, C. (2022). Revisiting the human dental follicle: From tooth development to its association with unerupted or impacted teeth and pathological changes. *Developmental Dynamics*, 251(3), 408-423.

Brookes, Z., Bescos, R., Belfield, L., Ali, K., & Roberts, A. (2020). Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: A narrative review. *Journal of Dentistry*, 103, 103497.

Caton, J., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I., Jepsen, S., Kornman, K., Mealey, B., *et al.* (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Clinical Periodontology*, *45*, S1-S8.

Chapple, I., Mealey, B., Van Dyke, T., Bartold, P., Dommisch, H., Eickholz, P., *et al.* (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, *89*, S74-S84.

Cieplik, F., Jakubovics, N. S., Buchalla, W., Maisch, T., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2019). Resistance Toward Chlorhexidine in Oral Bacteria – Is There Cause for Concern? *Frontiers in Microbiology*, *10*, 587.

Cochrane, R., & Sindelar, B. (2015). Case Series Report of 66 Refractory Maintenance Patients Evaluating the Effectiveness of Topical Oxidizing Agents. *The Journal of Clinical Dentistry*, *26*(4), 109-114.

De Jong, T., Bakker, A., Everts, V., & Smit, T. (2017). The intricate anatomy of the periodontal ligament and its development: Lessons for periodontal regeneration. *Journal of Periodontal Research*, *52*(6), 965-974.

Gibbs, S., Roffel, S., Meyer, M., & Gasser, A. (2019). Biology of soft tissue repair: Gingival epithelium in wound healing and attachment to the tooth and abutment surface. *European Cells and Materials*, *38*, 63-78.

Dukka, H., Dietrich, T., Saleh, M., Troiano, G., Yonel, Z., Ravidà, A., *et al.* (2022). Prognostic performance of the 2017 World Workshop classification on staging and grading of periodontitis compared with the British Society of Periodontology's implementation. *Journal of Periodontology*, *93*(4), 537-547.

Fiorillo, L. (2019). Chlorhexidine Gel Use in the Oral District: A Systematic Review. *Gels*, *5*(2), 31.

Foster, B. L. (2017). On the discovery of cementum. *Journal of Periodontal Research*, 52(4).

Geistlich (2023) Protect and improve healing with Pocket-X Gel. Geistlich Pharma AG. 602280/2307.

Groeger, S., & Meyle, J. (2019). Oral Mucosal Epithelial Cells. *Frontiers in Immunology*, 10, 208.

Guo, H., Bai, X., Wang, X., Qiang, J., Sha, T., Shi, Y., *et al.* (2022). Development and regeneration of periodontal supporting tissues. *genesis*, 60(8-9), e23491.

Guo, Y., Guo, W., Chen, J., Chen, G., Tian, W., & Bai, D. (2018). Are Hertwig's epithelial root sheath cells necessary for periodontal formation by dental follicle cells? *Archives of Oral Biology*, 94, 1-9.

Haas, A., Furlaneto, F., Gaio, E., Gomes, S., Palioto, D. B., Castilho, R., *et al.* (2021). New tendencies in non-surgical periodontal therapy. *Brazilian Oral Research*, 35(suppl 2), e095.

Hathaway, J., & Novince, C. (2021). Maintaining homeostatic control of periodontal bone tissue. *Periodontology 2000*, 86(1), 157-187.

Ichim, T., O'Heeron, P., & Kesari, S. (2018). Fibroblasts as a practical alternative to mesenchymal stem cells. *Journal of Translational Medicine*, 16(1), 212.

Imai, K., Kotani, T., Tsuda, H., Nakano, T., Ushida, T., Iwase, A., *et al.* (2018). Administration of molecular hydrogen during pregnancy improves behavioral abnormalities of offspring in a maternal immune activation model. *Scientific Reports*, 8, 9221.

Janakiram, C., Venkitachalam, R., Fontelo, P., Iafolla, T., & Dye, B. (2020). Effectiveness of herbal oral care products in reducing dental plaque & gingivitis – a systematic review and meta-analysis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 43.

Keke, Z., Xuedong, Z., & Xin, X. (2017). [The origin of hydrogen peroxide in oral cavity and its role in oral microecology balance]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi = Huaxi Kouqiang Yixue Zazhi = West China Journal of Stomatology*, 35(2), 215-220.

Keller, D., & Buechel, M. (2017). Direct medication delivery modifies the periodontal biofilm. *Oral Biology and Dentistry*, 5(1), 1.

Kinane, D., Stathopoulou, P., & Papapanou, P. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17038.

Kwon, T., Lamster, I., & Levin, L. (2021). Current Concepts in the Management of Periodontitis. *International Dental Journal*, 71(6), 462-476.

Lang, N., & Bartold, P. (2018). Periodontal health. *Journal of Periodontology*, 89, S9-S16.

Leonardi, F. (2018). The Definition of Health: Towards New Perspectives. *International Journal of Health Services*, 48(4), 735-748.

Li, Y., Ling, J., & Jiang, Q. (2021). Inflammasomes in Alveolar Bone Loss. *Frontiers in Immunology*, 12, 691013.

Lin, K.-Y. (2019). *Molecular damage and responses of oral keratinocyte to hydrogen peroxide*. 10.

Lombardi, B., Casale, C., Imperato, G., Urciuolo, F., & Netti, P. A. (2017). Spatiotemporal Evolution of the Wound Repairing Process in a 3D Human Dermis Equivalent. *Advanced Healthcare Materials*, 6(13), 1601422.

Madhusudanan, S., & Renjith, A. (2020). Comparative Evaluation of Cytotoxicity of 0.12% and 0.2% Chlorhexidine, 2% Povidone Iodine, 3% Hydrogen Peroxide and 0.9% Normal Saline Solutions on Fibroblasts- An Invitro Study. *Journal Of Clinical and Diagnostic Research*. 14(9) ZC21-ZC25.

Marshall, M., Cancro, L., & Fischman, S.(1995). Hydrogen Peroxide: A Review of Its

Use in Dentistry. *Journal of Periodontology*, 66(9), 786-796.

Murakami, S., Mealey, B. L., Mariotti, A., & Chapple, I. (2018). Dental plaque-induced gingival conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(S20), S17.

Papapanou, P., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D., *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: Classification and case definitions for periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, S162-S170.

Putt, M., Mallatt, M., Messmann, L., & Proskin, H. (2014). A 6-month clinical investigation of custom tray application of peroxide gel with or without doxycycline as adjuncts to scaling and root planing for treatment of periodontitis. *American Journal of Dentistry*, 27(5).

Putt, M., Wayne, F., Proskin, H., & Proskin, H. (2012). Custom Tray Application of Peroxide Gel as an Adjunct to Scaling and Root Planing in the Treatment of Periodontitis: A Randomized, Controlled Three-Month Clinical Trial. *The Journal of Clinical Dentistry*, 23(2), 48-56.

Ríos, A., González, F., & Rodríguez, J. (2017). Bactericidal Efficacy of Hydrogen Peroxide-Based Disinfectants Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria on Stainless Steel Surfaces: Hydrogen peroxide-based disinfectants.... *Journal of Food Science*, 82(10), 2351-2356.

Rueda, M., Melguizo, L., Costela, V., De Luna, E., Ruiz, C., Ramos, J., & Illescas, R. (2022). Effect of the most common wound antiseptics on human skin fibroblasts. *Clinical and Experimental Dermatology*, 47(8), 1543-1549.

Sanz, M., Herrera, D., Kerschull, M., Chapple, I., Jepsen, S., Berglundh, T., Sculean, A., & Tonetti, M. (2020). Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(Suppl 22), 4-60.

Swaaaj, B., Van der, G., Bakker, E., Graziani, F., & Slot, D. (2020). Does

chlorhexidine mouthwash, with an anti-discoloration system, reduce tooth surface discoloration without losing its efficacy? A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Dental Hygiene*, 18(1), 27-43.

Tijerina, M., Enríquez, M., Pulido, J., & Cantú, O. (2020). *La terapia de soporte en la enfermedad periodontal*. 17(212). 18-26.

Tonetti, M., Greenwell, H., & Kornman, K. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Periodontology*, 89(S1), S159-S172.

Trombelli, L., Farina, R., Silva, C., & Tatakis, D. (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of Periodontology*, 89, S46-S73.

Urban, M., Rath, T., & Radtke, C. (2019). Hydrogen peroxide (H₂O₂): A review of its use in surgery. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 169(9-10), 222-225.

Van der Weijden, G., Dekkers, G., & Slot, D. (2019). Success of non-surgical periodontal therapy in adult periodontitis patients: A retrospective analysis. *International Journal of Dental Hygiene*, 17(4), 309-317.

Vergara, A., & Castro, C. (2020). Use of mouthwashes against COVID-19 in dentistry. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 58(8), 924-927.

Yan, Y., Zhan, Y., Wang, X., & Hou, J. (2020). Clinical evaluation of ultrasonic subgingival debridement versus ultrasonic subgingival scaling combined with manual root planing in the treatment of periodontitis: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 21(1), 113.

Yuan, Y., & Chai, Y. (2019). Regulatory mechanisms of jaw bone and tooth development. *Current topics in developmental biology*, 133, 91-118.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Catalina Ocejo Almaguer

Candidato para el Grado de

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Periodoncia con Implantología Oral

Tesis: ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO CITOTÓXICO DEL GEL DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y CLORHEXIDINA SOBRE FIBROBLASTOS

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León el 10 de octubre de 1996, hija de Juan Ocejo Martínez y Ma. Del Carmen Almaguer Rodríguez

Educación: Egresada de la Universidad de Monterrey, grado obtenido Médico Cirujano Dentista en 2021, obteniendo el premio Magna Cum Laude.