

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**“ESTUDIO CLÍNICO DE LA ACTIVIDAD ANTIPLACA DE LA
CLORHEXIDINA INCORPORADA A NANOPARTÍCULAS
POLIMÉRICAS”**

POR

TANIA NAYELI HERNÁNDEZ VELA

**CON OPCIÓN AL GRADO DE MAestrÍA EN
CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN
EN PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA**

DICIEMBRE, 2016

AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIA

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
RESUMEN	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	2
2.1 Hipótesis general.....	2
2.2 Hipótesis nula	2
3. OBJETIVOS	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos específicos	3
4. ANTECEDENTES	4
4.1 Placa dentobacteriana.....	4
4.2 Clorhexidina.....	6
4.3 Nanopartículas poliméricas: características y propiedades... 11	
5. MATERIALES Y MÉTODOS	15
5.1 Tipo de estudio.....	15

5.2 Población de estudio	15
5.3 Lugar de estudio.....	15
5.4 Período de estudio.....	15
5.5 Tamaño de la muestra y metodología estadística	15
5.6 Criterios de selección.....	16
5.6.1 Criterios de inclusión.....	16
5.6.2 Criterios de exclusión	16
5.6.3 Criterios de eliminación.....	16
5.7 Programa de procedimientos.....	16
5.8 Pruebas diagnóstico.....	17
5.8.1 Índice de placa	17
5.9 Fijación de dosis.....	18
5.10 Método de aplicación del enjuague.....	18
5.11 Formulaciones.....	21
5.11.1 Ensamblaje, etiquetado y almacenamiento	21
5.12 Formulación de nanopartículas	22
5.12.1 Preparación de nanopartículas.....	22
5.12.2 Caracterización fisicoquímica	23
5.13 Definición de variables	23
6. RESULTADOS	24

6.1 Formulación de nanopartículas con clorhexidina	24
6.2 Evaluación clínica de la clorhexidina libre y nanoencapsulada	24
7. DISCUSIÓN	31
8. CONCLUSIONES	33
9. APÉNDICES	34
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS... ..	47
11. RESUMEN BIOGRÁFICO.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la clorhexidina.....	6
Figura 2. Distribución de tamaño de las nanopartículas cargadas con clorhexidina.....	24
Figura 3. Media aritmética del índice de placa según el grupo de estudio.....	28
Figura 4. Estudio clínico (48h) del índice de placa de las formulaciones.....	29

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Niveles y descripciones del índice de placa según Turesky.....	18
Tabla 2. Programa de procedimientos durante los tres días del estudio.....	20
Tabla 3. Condiciones de preparación de nanopartículas con clorhexidina.....	22
Tabla 4. Estadística descriptiva del índice de placa según el grupo de estudio.....	25
Tabla 5. Análisis de varianza de los grupos de estudio.....	30
Tabla 6. Prueba HSD de Turkey de los grupos de estudio.....	30

RESUMEN

Tesista: Tania Nayeli Hernández Vela

Fecha de graduación: Julio 2013

Facultad: Odontología, UANL

Posgrado: Periodoncia

Candidata a: Maestría en Ciencias Odontológicas con Orientación en Periodoncia con Implantología

Título: Estudio clínico de la actividad antiplaca de la clorhexidina incorporada a nanopartículas poliméricas

Área: Periodoncia

Número de páginas: 60

Propósito: Evaluar el efecto antiplaca *in vivo* de la clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas en un periodo de 48hrs sin control de placa mecánico.

Materiales y métodos: Se realizaron 3 pruebas en cada uno de los pacientes incluidos en el estudio, a los cuales se les realizó limpieza dental al inicio de cada prueba, la administración de 15 ml de la solución a evaluar y se registró el índice de placa en intervalos de 6 horas por un periodo de 48 hrs. En la prueba control negativo se administró agua estéril, en la prueba control positivo se administró clorhexidina libre, y en la prueba experimental se administró clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas. Se evaluaron y se compararon los resultados de forma estadística.

Resultados: El grupo que presentó mayor índice de placa a las 48 hrs fue el grupo control 1 agua estéril, con una desviación estándar de 1.14

Al realizar el análisis estadístico para verificar si existía diferencia entre los promedios finales se observó que en los grupos control 2 clorhexidina libre y grupo experimental 3 clorhexidina encapsulada en nanopartículas se presentó un menor índice de placa a las 48 hrs

El grupo que presentó el menor de los índices de placa a las 48 hrs fue el grupo experimental, con una desviación estándar de 0.62 lo que indica que las nanopartículas poliméricas prolongaron la acción antiplaca de la clorhexidina en este periodo.

Conclusión: La presente investigación demostró que un enjuague con clorhexidina incorporada a nanopartículas poliméricas, en conjunto con un régimen de nulo control mecánico de placa en el cual se excluyó el cepillado y uso de un dentífrico, durante un período de 48 horas, pudo reducir de forma clínica pero no estadísticamente significativa los niveles de placa, por encima del grupo control. Nuestros resultados demostraron una reducción clínica del índice de placa, sin embargo, la diferencia no estadísticamente significativa en comparación con otros estudios puede deberse al tamaño de la muestra y población del estudio, y al tiempo de evaluación. Probablemente teniendo una muestra más grande y un período mayor de tiempo, los resultados pudieran ser estadísticamente significativos.

Un importante hallazgo en el presente estudio de investigación es que el incorporar clorhexidina a nanopartículas poliméricas tuvo un efecto benéfico en la sustentividad de dicha solución por lo tanto un efecto benéfico también en la reducción de la placa en todas las áreas de los dientes evaluados, lo cual coincide y sobrepasa los resultados que se encontraron en el grupo control 2 clorhexidina libre.

ABSTRACT

Aim: The purpose of this study was to evaluate in vivo the antiplaque effect of the formulation's chlorhexidine solution and chlorhexidine in polymeric nanoparticles encapsulated in a period of 48hrs without mechanical plaque control.

Methods: 3 tests in each of the patients included in the study were performed. Dental cleaning was performed at the beginning and it was administrated 15 ml of the solution to assess and record plaque index at 6-hour intervals for a period of 48 hrs. Sterile water was given to the negative test control and in the positive control test was administered free chlorhexidine . In the experimental test encapsulated in polymeric nanoparticles was administered. The results were evaluated and compared statistically.

Results: The group which had a higher plaque index at 48 hrs was sterile water control group, with a standard deviation of 1.14.

When performing statistical analysis to verify whether there was difference between the final averages, was observed that in the 2° control group (free chlorhexidine) and in the 3° experimental group (chlorhexidine in polymeric nanoparticles encapsulated) a lower rate of plaque was present at 48 hrs.

The group that had the lowest rate of plaque at 48 hrs was the experimental group, with a standard deviation of 0.62 indicating that polymeric nanoparticles extended the antiplaque action of chlorhexidine in this period.

Conclusions: This study showed that a chlorhexidine rinse incorporated into polymeric nanoparticles, together with a system of zero mechanical plaque control in which the dental brushing and use of a dentifrice was excluded for a period of 48 hours could be clinically reduced but not statistically significant levels of plaque over controls. Our results showed a clinical plaque reduction index, however, no statistically significant difference in comparison with other studies, may be due to the sample size, the study population and the duration of the evaluation. Probably taking a larger sample and a longer period of time, the results could be statistically significant.

An important finding in this study is that incorporating chlorhexidine polymeric nanoparticles had a beneficial effect on the substantivity of the solution thus a beneficial effect also in reducing plaque in all areas of the teeth tested, which matches and surpasses the results found in the control group, 2 free chlorhexidine.

I. INTRODUCCIÓN

La caries y la enfermedad periodontal son las enfermedades bucales más comunes que afectan a la población mundial. Ambas involucran la adherencia de bacterias y el desarrollo de biofilms en las restauraciones dentales o en la superficie dental. Diversas evidencias muestran que el crecimiento de la placa dental está ligado a la inflamación gingival independientemente de la edad, sexo o raza del individuo (*Albandar JM & Rams TE, 2002*).

La placa dentobacteriana, por ser un biofilm, posee un carácter muy organizado que requiere la remoción mecánica para su eliminación completa de las superficies dentarias. Si no se elimina, esta placa produce una inflamación en los tejidos gingivales o gingivitis, que a su vez produce sangrado al cepillado y cambios de coloración y textura de la encía. La prevención de la caries dental y la enfermedad periodontal se lleva a cabo mediante el control mecánico, sin embargo, el uso de agentes antimicrobianos representa un componente valioso para el control de la placa dental (*Baehni PC & Takeuchi Y, 2003*).

Entre los agentes químicos para el control de placa destaca la clorhexidina como agente antifúngico y antibacteriano. Se utiliza en enjuagues bucales y se recomienda como complemento al cepillado dental. Debido a que la clorhexidina es un compuesto altamente catiónico, presenta una adecuada sustentividad. Su estructura química le permite permanecer en la cavidad oral durante un período adecuado después su aplicación (*Bonesvoll P et al, 1974a*).

La eficacia a largo plazo de la clorhexidina depende de la duración de la exposición (*Bonesvoll P et al, 1974b*), por lo que se podría recurrir a las nanopartículas poliméricas como opción de vehículo farmacéutico para incrementar la sustentividad de dicho agente en boca. Las nanopartículas son coloides que poseen una estructura polimérica matricial que puede atrapar, encapsular o adsorber fármacos. En estos coloides pueden incorporarse diferentes tipos de fármacos y orientarlos hacia un tejido o una célula diana. La realización de este estudio tiene como finalidad probar a las nanopartículas poliméricas como vehículos de liberación de clorhexidina para incrementar su sustentividad.

1. HIPÓTESIS

2.1 Hipótesis general

Si la utilización de nanopartículas poliméricas como vehículo mejora la sustentividad de la clorhexidina (en relación con la clorhexidina no encapsulada), en pacientes que no realizan control mecánico de higiene bucal por un periodo de 48 h, entonces su efecto antiplaca aumentará y los niveles de placa se controlarán adecuadamente durante este periodo.

2.2 Hipótesis nula

Si la utilización de nanopartículas poliméricas como vehículo no mejora la sustentividad de la clorhexidina (en relación con la clorhexidina no encapsulada), en pacientes que no realizan control mecánico de higiene bucal por un periodo de 48 h, entonces su efecto antiplaca no se modificará y los niveles de placa no se controlarán adecuadamente durante este período.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antiplaca *in vivo* de las formulaciones de clorhexidina en solución y clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas en un periodo de 48 h sin control de placa mecánico.

3.2 Objetivos específicos

- Preparar, por medio del método de nanoprecipitación, nanopartículas de 200 nm con clorhexidina incorporada.
- Caracterizar las formulaciones de nanopartículas en función de su tamaño, índice de polidispersidad y porcentaje de encapsulación.
- Determinar el efecto antiplaca de la formulación de nanopartículas en comparación con la clorhexidina en solución, a través de la obtención del índice de placa (*Turesky et al, 1970*).

4. ANTECEDENTES

4.1 Placa dentobacteriana

La placa dental se ha definido como una comunidad microbiana que se desarrolla en la superficie del diente, integrada a una matriz de polímeros salivales y bacterianos. Esta se forma a través de una secuencia de eventos ordenados, dando como resultado un biofilm organizado y funcional rico en especies microbianas.

Formación de la placa dental

Inicialmente, algunas moléculas son adsorbidas a la superficie dental segundos después de la limpieza; estas moléculas son derivadas principalmente de la saliva, y en la región subgingival, las moléculas provienen del fluido crevicular. Esto forma una película condicionante que altera las propiedades de la superficie dental, así las bacterias interactúan directamente de manera reversible e irreversible con las moléculas que la constituyen.

En segunda instancia, los colonizadores secundarios se adhieren mediante sus adhesinas a los receptores en las bacterias previamente adheridas, incrementando la diversidad microbiana dentro del biofilm en desarrollo. Mas tarde, las bacterias adheridas se multiplican incrementando la síntesis de exopolímeros para formar la matriz del biofilm; ésta es más que un andamio químico para mantener la forma del biofilm ya que le da integridad y la provee de

tolerancia hacia los factores ambientales y agentes antimicrobianos. Dicha matriz puede ser biológicamente activa, retener agua, nutrientes y enzimas dentro del biofilm. La química de esta matriz puede excluir o restringir la penetración de otras moléculas como las de agentes antimicrobianos incluyendo a la clorhexidina (*Van Der Weijden F & Slot D, 2011*). Si se comprende la secuencia de eventos que suceden durante la formación de placa, la maduración y los procesos a través de los cuales los microorganismos se adhieren, se tendrá una visión más amplia para la aplicación de estrategias preventivas en la cavidad oral (*Hancock EB & Newell DH, 2001*).

Control de la placa dental

La prevención de la caries dental y la enfermedad periodontal se lleva a cabo mediante el control mecánico, sin embargo, el uso de agentes antimicrobianos representa un componente valioso para el control de la placa dental (*Baehni PC & Takeuchi Y, 2003*).

Addy M & Moran JM (1997) presentaron una clasificación de los productos de higiene oral, entre los cuales destacan los agentes antiplaca; éstos son químicos que tienen un efecto inhibitorio sobre la formación de la placa, el cual es suficiente para prevenir la gingivitis o la caries.

Entre las sustancias utilizadas para el control de placa dental se pueden nombrar a los antisépticos bisguanídicos como la clorhexidina, los compuestos de amonio cuaternario, fenoles y aceites esenciales, los productos naturales, los agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno, detergentes como el laurilsulfato sódico y los alcoholes aminados (*Bascones A & Morante S, 2006*).

Los agentes más eficaces son aquellos cuya acción persiste en la boca durante el mayor

tiempo posible. La persistencia de la acción o sustentividad depende de varios factores: 1) retención prolongada del compuesto por adsorción en las superficies bucales, incluidos los dientes cubiertos por película, 2) conservación de la actividad antimicrobiana del activo una vez adsorbido, y 3) neutralización mínima o lenta de la actividad antimicrobiana en el medio bucal, o lenta eliminación de las superficies (Bascones A & Morante S, 2006).

4.2 Clorhexidina

La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica (Fig.1) consistente en dos anillos cuatro clorofenil y dos grupos bisguanida conectados por una cadena central de dexametileno (clorofenil bisguanida) (Bascones A et al, 2002).

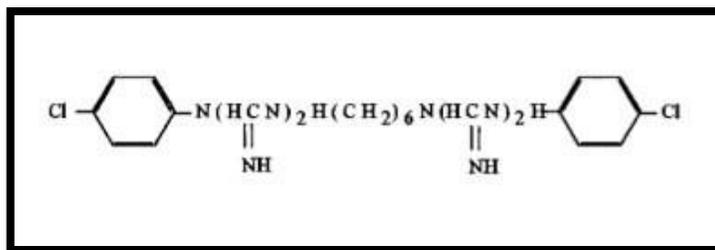


Fig. 1 Estructura química de la clorhexidina.

Debido a sus propiedades catiónicas se une a la hidroxiapatita del esmalte, a la película adquirida y a las proteínas salivales. La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente, con lo que se evita la colonización bacteriana en ese tiempo (sustantividad). Químicamente, esta molécula se presenta como cristales incoloros e inodoros solubles en agua y de aquí su uso mediante la fórmula de sal hidrosoluble. A un pH fisiológico la molécula de clorhexidina se disocia, de esta forma al cargarse positivamente es capaz de unirse a la pared bacteriana, cargada negativamente, alterando de esta manera el equilibrio osmótico (Veksler AE et al, 1991).

Se ha sugerido que la acción antiplaca de la clorhexidina involucra distintos mecanismos:

1. Reduce el número de bacterias en saliva.
2. Bloquea los grupos ácidos de las glucoproteínas salivales, reduciendo así la adsorción de proteínas a la superficie dental.
3. Se une a la superficie de bacterias salivales, incluyendo cubiertas de polisacáridos, lo cual sugiere una acción de interfase en la adsorción de la bacteria a la superficie del diente.
4. Precipita los factores de aglutinación en la saliva y desplaza al calcio, el cual es el principal factor para el efecto adhesivo de la placa.

Adicionalmente, la clorhexidina actúa contra la pared celular de los microorganismos causando afectaciones en la movilidad electroforética de todo el microorganismo, alterando la integridad de la pared celular y facilitando la liberación de los componentes intracelulares.

Así mismo la clorhexidina tiene una acción antiinflamatoria por su poder detergente y antioxidante. En efecto, inhibe la capacidad de las bacterias de activar el metabolismo oxidativo de los neutrófilos impidiendo por lo mismo, la enorme liberación por estos últimos de enzimas que participan en el proceso inflamatorio. Simultáneamente, inhibe los efectos deletéreos de la producción excesiva de radicales libres (*Betancourth M et al 2006*) en la inflamación gingival (*Giuliana G et al, 1997; Hunter & Addy, 1987; Veksler AE et al, 1991*).

Sustantividad de la clorhexidina

La sustantividad se define como la adherencia prolongada del antiséptico a las superficies orales (dientes y mucosas) a dosis eficaces que garanticen la persistencia de su actividad antimicrobiana (*Manau N et al, 2003*). Existe evidencia que indica que la retención de las bisbiguanidas en boca es la base para la inhibición de la placa (*Rölla G et al, 1971*).

La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente de 8-12 h en su forma activa (*Rölla G et al, 1970*). Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Además, la clorhexidina tiene la ventaja de poseer una sustantividad subgingival prolongada, ya que se une a los tejidos blandos y duros (*Bonesvoll P & Gjermo P, 1978*).

Sin embargo, actualmente existen aspectos asociados a la actividad antibacteriana de la clorhexidina que no están suficientemente investigados. Se ha demostrado que la retención de la clorhexidina en la cavidad oral depende no sólo de la naturaleza del producto, sino también de factores intrínsecos asociados al antiséptico (como la concentración, el tiempo y la temperatura) y de factores extrínsecos (como la presencia de dientes, prótesis dentarias o materia orgánica, el pH salival, así como la ingesta de comida o bebida), lo que podría condicionar su actividad antibacteriana (*Bonesvoll P et al, 1974b; Bonesvoll P & Olsen I, 1974; Tsuchiya et al, 1999*).

Efectos secundarios y toxicidad

No se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión de la clorhexidina, ni hay evidencias de teratogénica en el modelo animal. No se ha observado resistencia bacteriana, ni en los casos de uso prolongado en boca, ni hubo evidencias de sobreinfección por hongos, levaduras o virus. Sin embargo, el uso prolongado en boca produce un leve desplazamiento de la flora hacia microorganismos menos sensibles, pero se revirtió rápidamente a la situación inicial al término del estudio de dos años.

Su efecto adverso más común es la pigmentación marrón de los dientes, de algunos materiales de restauración y de las mucosas, sobre todo del dorso de la lengua. La causa por la que la clorhexidina produce tinción no es del todo clara, existiendo distintas teorías al

respecto. Lo que sí parece claro es que se produce una interacción entre diversos participantes: la molécula bicatiónica de clorhexidina se une a la superficie del diente a través de un grupo catiónico, y al mismo tiempo, el otro grupo catiónico, en vez de unirse a las bacterias se une a sustancias dietéticas ricas en taninos, produciéndose una pigmentación; así productos como el té, el vino tinto o el café potencian la pigmentación.

Otro efecto secundario frecuente es la alteración del gusto, que podría reducirse evitando enjuagarse con agua después de la aplicación de clorhexidina. Un estudio de *Straub y colaboradores (2001)*, concluyen que el alcohol de los colutorios de clorhexidina produce una mayor alteración del gusto que los colutorios en solución no alcohólica.

Se han descrito también lesiones descamativas en la mucosa alveolar después de buches al 0,2 %. La descamación de células epiteliales puede ocurrir más frecuentemente con alta concentración que con baja (*Flotra L et al, 1973*).

Cabe destacar que si una clorhexidina no tiñe los dientes no es efectiva, ya que significa que la segunda molécula catiónica ha reaccionado con algo en la formulación, haciéndola invariable tanto para un efecto beneficioso (unirse a la bacteria) como para uno indeseado (teñir) (*Claydon N et al, 2001*).

Aplicación de la clorhexidina en Odontología

El uso odontológico de la clorhexidina como agente antifúngico y antibacteriano está bien documentado. Su principal aplicación ha sido para el control de la placa dental. Sin embargo, varios estudios han indicado que la clorhexidina es también eficaz en la periodontitis. La clorhexidina se utiliza principalmente en enjuagues bucales y se recomienda en la fase higiénica del tratamiento como complemento al cepillado dental.

También se ha usado durante las fases del tratamiento periodontal no quirúrgico y postoperatorio. Llevando a cabo una acción bacteriostática, mejora la curación de la herida, así los pacientes la prefieren como apósito en la fase inmediata postquirúrgica; además, favorece un óptimo control de la placa inmediatamente después del tratamiento cuando el malestar puede impedir la limpieza dental (*Schwach-Abdellaoui N et al, 2000*).

El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia fue el realizado por *Löe y Schiott (1970)*, en el que se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0,2 % en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis. Otros estudios han demostrado que los dispositivos de liberación prolongada en la boca son aún más eficaces, especialmente para el tratamiento de bolsas periodontales (*Kornman KS, 1993*).

La eficacia a largo plazo de la clorhexidina en la bolsa periodontal depende de la duración de la exposición. La irrigación de clorhexidina dentro de la bolsa periodontal tiene sólo un efecto de corta duración. La liberación sostenida de clorhexidina durante 3 días mostró cambios significativos hasta por 14 días, mientras que 9 días de la exposición continuada a la clorhexidina dio resultados significativos durante 11 semanas (*Stabholz et al, 1986*).

La escasa eficiencia de la clorhexidina en el área subgingival puede explicarse por el uso de concentraciones inefectivas y/o por la baja sustentividad subgingival de este fármaco (escasa adherencia a la superficie radicular) que dan como resultado concentraciones subterapéuticas poco tiempo después de su aplicación (*Marc Quirynen et al, 2003*).

Estudios refieren un aumento significativo de la actividad antimicrobiana (reducción del 99% en los patógenos periodontales) cuando se aplica repetidas veces (clorhexidina al 2%, 3 veces al día durante 10 minutos) (*Oosterwaal PJ et al, 1991*).

4.3 Nanopartículas poliméricas: características y propiedades

La manipulación de la materia a nivel nanométrico y su aplicación en alguna rama de la medicina se denomina nanomedicina. Las principales aplicaciones que se estudian en el área odontológica van orientadas al diseño de biosensores, sistemas de diagnóstico, creación de nuevos materiales (i.e. poliméricos y compósitos) y vehículos acarreadores de fármacos. Esta última aplicación, la vectorización de principios activos, tiene un gran potencial en odontología debido a que podría solucionar las principales limitantes de la aplicación local de fármacos: la poca residencia y la baja disponibilidad del fármaco.

Las nanopartículas poliméricas son sistemas coloidales que poseen una estructura matricial o capsular polimérica que puede atrapar, encapsular o adsorber fármacos y orientarlos hacia un tejido o una célula diana. Están formados por macromoléculas y presentan, preferentemente, tamaños de 10 a 600 nm. Según su estructura, las nanopartículas pueden ser nanoesferas o nanocápsulas. Las nanoesferas son de tipo matricial y en este caso el principio activo puede ser absorbido o incorporado en la partícula. Las nanocápsulas son sistemas vesiculares que consisten en un núcleo líquido rodeado por una membrana polimérica; la molécula de interés puede estar disuelta o dispersa en el núcleo de la partícula (*Galindo- Rodríguez et al, 2005*).

Las nanopartículas se han utilizado como acarreadores potenciales para proteger al principio activo de la degradación, biodireccionarlo a su sitio de acción y reducir la toxicidad o efectos secundarios que pudiera causar el mismo activo administrado en una forma convencional. Esto lo pueden lograr gracias a que protegen al activo de su degradación prematura y lo pueden liberar de manera controlada. Principalmente, la liberación del fármaco depende de la composición química de la matriz polimérica que forma a las nanopartículas.

Las nanopartículas pueden estar preparadas de distintos materiales como proteínas, polisacáridos y polímeros sintéticos. La selección de la matriz de estos materiales es dependiente de algunos factores tales como: 1) el tamaño requerido de las nanopartículas, 2) las propiedades inherentes del fármaco encapsulado, por ejemplo, su solubilidad y estabilidad, 3) las características superficiales deseadas en las nanopartículas, como carga y permeabilidad,

4) el desempeño deseado durante la aplicación y la administración incluyendo la degradación, biocompatibilidad y antigenicidad del producto (*Mohanraj VJ & Chen Y, 2006*).

La aplicación local en dispositivos de liberación controlada ofrece la ventaja de mantener la concentración local del fármaco, permitiendo que la dosis se mantenga dentro del intervalo terapéutico. Esto reduce el riesgo de efectos colaterales y la posible aparición de resistencia bacteriana (*Nagpal K et al, 2010; Galindo- Rodríguez et al, 2005*).

Por otra parte, las nanopartículas también han sido usadas para ser direccionadas a superficies de mucosas por ejemplo, *De Campos y col (2001)* emplearon nanopartículas de quitosán para liberación de fármacos en la región extraocular (córnea y conjuntiva) y demostraron que las nanopartículas cargadas con fármaco permanecen asociadas a las estructuras extraoculares por un periodo de 48 h. Concluyeron que la formulación de nanopartículas proporcionaba una mejor entrega del fármaco debido a que se promueve la liberación del mismo, esto al ser comparadas con los tratamientos convencionales administrados en la región extraocular.

Importancia de la composición de las nanopartículas poliméricas

Diferentes materiales poliméricos pueden ser usados para la preparación de nanopartículas, los cuales permiten la modulación de sus características fisicoquímicas, la liberación de fármacos de distinta naturaleza y la modulación de su el comportamiento biológico de las nanopartículas. Los materiales poliméricos usados para la formulación de nanopartículas incluyen polímeros sintéticos como el ácido poliláctico, el ácido poli (láctico-co-glicólico), los derivados del ácido polimetacrílico y los policianoacrilatos, así como polímeros naturales como la albúmina, la gelatina, el alginato y el quitosán.

Mientras los polímeros naturales generalmente proporcionan una duración de liberación relativamente corta, los polímeros sintéticos permiten una liberación prolongada de los agentes

terapéuticos encapsulados en periodos de días a semanas (*Anderson JM & Shive MS, 2012*).

Por otro lado, las nanopartículas diseñadas con polímeros mucoadhesivos pueden ofrecer ventajas adicionales cuando son administradas localmente en la cavidad oral debido a que pueden prolongar su residencia y con ello la del fármaco transportado.

Incorporación de fármacos dentro de nanopartículas

Las nanopartículas poliméricas son de gran interés desde el punto de vista farmacéutico. Dependiendo del método usado para la preparación, los fármacos ya sea hidrofílicos o hidrofóbicos pueden ser asociados a esos transportadores coloidales. De hecho, la sustancia activa puede ser encontrada encapsulada en el núcleo de las nanopartículas (compuestos aceitosos o fármacos solubles en un aceite), adsorbida en la nanopartícula (fármacos tanto hidrofílicos) o dispersada en la matriz polimérica (fármacos hidrofóbicos como hidrofílicos) (*Niwa T et al, 1993; Sakuma S et al 2009; Galindo Rodríguez S et al, 2005*).

Aplicación de las nanopartículas en Odontología

En los últimos años, las nanopartículas poliméricas han resultado una opción prometedora para la liberación local de fármacos ya que podrían funcionar como excelentes vectores de antibióticos en enfermedades periodontales (*Nagpal K et al, 2010*).

En general, no existen suficientes investigaciones en la aplicación de vectores nanoparticulados aplicados a la medicina dental. *Segundo-Piñon E y col (2000)* prepararon nanopartículas de 500 nm cargadas con triclosán destinadas al tratamiento de la enfermedad periodontal. Se encontró que la formulación de nanopartículas-triclosán reducían significativamente la inflamación en donde fue aplicada.

Para mejorar la terapia farmacológica contra infecciones y evadir la resistencia del agente infectivo se ha propuesto el uso de acarreadores nanoparticulados como sistemas de liberación, los cuales, además de aumentar la eficacia del activo, pueden disminuir sus efectos adversos y/o mantener una liberación controlada.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de estudio

Estudio comparativo, abierto, experimental, prospectivo, longitudinal y no pareado acerca del efecto de la incorporación de clorhexidina en nanopartículas poliméricas para aumentar su efecto antiplaca.

5.2 Población del estudio

A los individuos tomados en cuenta para participar en el estudio, con un rango de edad entre 18 y 50 años aproximadamente, se les explicó el objetivo del estudio y las instrucciones que debían seguir durante el tiempo del mismo, firmando a su vez un consentimiento informado acerca de la participación.

5.3 Período del estudio

Septiembre de 2012 a junio de 2013

5.4 Lugar del estudio

Clínica del Posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología y el Laboratorio de Nanotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL.

5.5 Tamaño de la muestra y metodología estadística

Los 2 pacientes involucrados en el presente estudio fueron elegidos del grupo de pacientes que cumplía con los criterios de inclusión, exclusión y eliminación considerados.

5.6 Criterios de selección

5.6.1 Criterios de inclusión

- Individuos entre 18 y 50 años.
- Mínimo 20 piezas dentales en boca.

5.6.2 Criterios de exclusión

- Individuos con enfermedad periodontal.
- Pacientes con aparatos de ortodoncia.
- Pacientes que estén bajo tratamiento de control de placa con clorhexidina o algún otro agente antiplaca.

5.6.3 Criterios de eliminación

- Pacientes que no cumplieron con las indicaciones y los horarios establecidos.
- Pacientes que presentaron reacciones alérgicas durante alguna prueba.

5.7 Programa de procedimientos

Un total de 2 pacientes sin enfermedad periodontal se incluyeron. Después de proveer un consentimiento informado, los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se les hizo profilaxis y control de placa previo al inicio del estudio.

Se evaluó una formulación de nanopartículas poliméricas que contenía clorhexidina al 0.12 %, una solución de clorhexidina al 0.12 % sin encapsular (control positivo) y agua estéril (control negativo). Se aplicó una sola dosis inicial a cada individuo y los pacientes retornaron en intervalos de 6 h por un periodo de 48 h para la recolección de datos clínicos y subjetivos y

se determinó la presencia de placa mediante la aplicación del índice de placa de *Quigley & Hein* (*Turesky S et al, 1970*).

5.8 Pruebas diagnóstico

Índice de placa

El índice de placa de Quigley & Hein (modificado por Turesky y colaboradores), llamado también índice de placa Turesky-Gilmore-Glickman, consiste en valorar la placa en las superficies vestibulares y linguales de toda la dentición luego de usar un agente revelador. El índice de placa se obtiene de la misma forma que el gingival, sumando las puntuaciones, dividiendo el resultado entre el número de dientes evaluados, y a su vez entre 6 (número de caras evaluadas). Este resultado final corresponderá al índice de placa del paciente (*Turesky y cols., 1970*). Este sistema de cuantificación de la placa es relativamente sencillo de utilizar debido a las definiciones objetivas de cada puntuación numérica. El mérito de este índice de placa es su aplicación en estudios longitudinales y ensayos clínicos sobre agentes preventivos y terapéuticos. La modificación Turesky-Gilmore-Glickman de los parámetros Quigley & Hein es considerada uno de los dos mejores índices cuando se valora la placa en estudios clínicos (*Fischman SL, 1986*). Los niveles del índice de placa se describen a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles y descripciones del índice de placa según Turesky (1970).

Nivel	Descripción
0	Ausencia de placa.
1	Depósitos separados de placa en el margen cervical del diente.
2	Una delgada y continua banda de placa (hasta 1 mm) en el margen cervical de diente.
3	Una banda de placa con un espesor mayor a 1 mm pero que cubre menos de 1/3 de la corona del diente.
4	La placa cubre al menos 1/3 pero menos de 2/3 de la corona del diente.
5	La placa cubre 2/3 o más de la corona del diente.

El estudio se llevó en concordancia con la Declaración de *Helsinki (2008)* y recibió una aprobación por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología UANL, donde se llevó a cabo el estudio.

5.9 Fijación de las formulaciones y las dosis

Consta de i) una dosis inicial de clorhexidina al 0.12% encapsulada en nanopartículas poliméricas, ii) una sola dosis inicial de clorhexidina no encapsulada en la prueba del control positivo y iii) una sola dosis inicial de agua estéril en la prueba del control negativo.

5.10 Método de aplicación del enjuague

Durante la primera visita cada paciente fue identificado con un número en un documento de recolección de datos. No se usó otra forma de identificación.

Se les pidió a los pacientes no utilizar ningún producto que contuviera clorhexidina, ni

algún otro agente para el control de la placa previo al inicio del estudio, ni utilizar pasta dental por lo menos 30 minutos antes de la aplicación de la solución. Los pacientes recibieron instrucciones para realizar el enjuague bucal de acuerdo a las indicaciones aprobadas a formulaciones comerciales que utilizan el mismo agente a la misma concentración (enjuague con 15 ml de producto al 0.12 %; los 15 ml contienen 18 mg de clorhexidina). De acuerdo a esta aplicación, el paciente cubrió totalmente la cavidad bucal con la solución asignada por 1 min.

Al terminar la aplicación se desechó la solución asignada y no se enjuagó con agua. No hubo restricciones en cuanto al consumo de comidas y bebidas después de la aplicación de la solución. Durante el estudio no se agregaron métodos mecánicos de control de placa como cepillado, el uso de hilo dental o palillos de dientes.

Los pacientes fueron examinados por un odontólogo cada 6 h durante 48 h, realizándose los procedimientos indicados en la Tabla 2.

Tabla 2. Programa de procedimientos durante los tres días del estudio

Día y hora	Muestra	Procedimiento realizado
1, 8:00 am.	1	Se obtuvo un consentimiento informado del paciente. Se obtuvo la historia médica y demografía del paciente. Se realizó una profilaxis dental. Se registró el índice de placa. Se registró la fecha de inicio de la dosis. Se realizó un solo enjuague de 15 ml de la formulación sin el previo conocimiento del paciente de cual solución se le aplicó. El paciente recibió instrucciones de no realizar medidas mecánicas de higiene oral durante el estudio ni usar cualquier otra sustancia química para el control de la placa dental. Se le brindaron las indicaciones para la toma de las muestras 1 a la 7.
1, 2:00 pm.	2	Se registró el índice de placa.
1, 8:00 pm.	3	Se registró el índice de placa.
2, 8:00 am.	4	Se registró el índice de placa.
2, 2:00 pm.	5	Se registró el índice de placa.
2, 8:00 pm.	6	Se registró el índice de placa.
3, 8:00 am.	7	La visita 7 fue después de transcurridas 48 horas. Se registró el índice de placa. Se realizó un profiláctico al terminar el estudio.

El control de placa mecánico con dentífricos o algún otro método no se permitió durante el período del estudio. Los pacientes debieron abstenerse del uso de dispositivos de irrigación. Los pacientes que requirieron tratamientos para una condición dental o médica fueron dados

de baja del estudio, así como también aquellos que el investigador consideró que la participación de alguno era inadecuada en relación con las indicaciones estipuladas.

5.11 Formulaciones

Formulación 1: Nanopartículas con clorhexidina al 0.12 %

Nanopartículas poliméricas con clorhexidina al 0.12 % obtenidas mediante el método de nanoprecipitación.

Dosis: Enjuague con 15 ml de la solución al 0.12 %. – Los 15ml al 0.12% contienen 18 mg de clorhexidina.

Formulación 2: (Prueba del Control Positivo)

Solución de Clorhexidina al 0.12%.

Dosis: Enjuague con 15 ml de la solución al 0.12%. – Los 15ml al 0.12% contienen 18 mg de clorhexidina.

Formulación 3: (Prueba del Control Negativo)

Agua Estéril.

Dosis: Enjuague con 15 ml de agua estéril.

Ensamblaje, etiquetado y almacenamiento de las dosis

Las soluciones del estudio se almacenaron a una temperatura ambiente (25°C) dentro de la Institución. Por consiguiente, cada frasco contenía 15 ml del producto a evaluar, por lo que a cada individuo se le asignó 1 frasco al comienzo del estudio (Día 1) con la solución asignada

para realizar un enjuague durante 1 minuto. Además, a cada uno se le entregó una hoja de indicaciones para reforzar las indicaciones previamente estipuladas.

5.12 Formulación de nanopartículas con clorhexidina

5.12.1 Preparación de nanopartículas

Los lotes de nanopartículas se prepararon por el método de nano precipitación propuesto por Fessi y colaboradores (1989). Inicialmente, se prepara una fase orgánica y una fase acuosa. La fase orgánica contiene al polímero sintético (Eudragit EPO), el fármaco (clorhexidina) y el solvente misible en agua (acetona). La fase acuosa está formada por PVA (Alcohol Polivinílico) y agua destilada, a una concentración de 0.4 % (p/p).

Posteriormente, la fase orgánica fue inyectada a una velocidad constante a 15 mL de fase acuosa. El solvente difundió totalmente al medio acuoso, lo cual indujo la formación de las nanopartículas. A la suspensión de nanopartículas se le eliminó el solvente bajo presión reducida. En la Tabla 3 se resumen las condiciones de preparación de las nanopartículas con clorhexidina.

Tabla 3. Condiciones de preparación de las nanopartículas con clorhexidina

Fase orgánica	Fase acuosa	Condiciones de preparación
60 mg de Polímero (EPO)	0.06 g de PVA	Evaporación a 100 rpm a presión reducida, 25°C durante 25 min
10 mg de Fármaco	14.94 ml de H ₂ O	
8ml de Acetona		

Después de evaporar, la preparación de nanopartículas fue llevada a un volumen final conocido para obtener una concentración final de 0.12% (p/v)

5.12.2 Caracterización fisicoquímica

Tamaño de la partícula: Se determinó el tamaño de las nanopartículas por espectroscopía de correlación fotónica (Zetasiser Nano ZS90, Malvern Instruments, R.U.). Las mediciones se realizaron por triplicado.

Porcentaje de encapsulación: Un lote evaporado de nanopartículas fue centrifugado (Beckman Coulter Allegra 64 R) y la pastilla resultante fue liofilizada (LABCONCO Freezone 2.5) durante 24 h. A continuación, se pesó una cantidad exacta de la pastilla liofilizada y se disolvió en una mezcla de solventes orgánicos para destruir su integridad y liberar a la clorhexidina. La solución obtenida fue analizada por espectrofotometría para determinar el contenido de clorhexidina encapsulada. El porcentaje de encapsulación se calculó como sigue: (mg de clorhexidina cuantificados en la pastilla / mg de la pastilla) X 100.

5.13 Definición de variables

Independientes (formulaciones)	Dependientes
Nanopartículas poliméricas con clorhexidina al 0.12%	Índice de placa
Solución de clorhexidina al 0.12%	Índice de placa
Agua estéril	Índice de placa

6. RESULTADOS

6.1 Formulación de nanopartículas con clorhexidina

La formulación de clorhexidina nano encapsulada presentó una población de nanopartículas con un tamaño promedio de 211 nm y un índice de polidispersión (IP) de 0.099. La distribución de la población de nanopartículas fue uniforme (Fig. 2). En relación a la clorhexidina incorporada en las nanopartículas poliméricas, el porcentaje de encapsulación correspondió al 2.0 %.

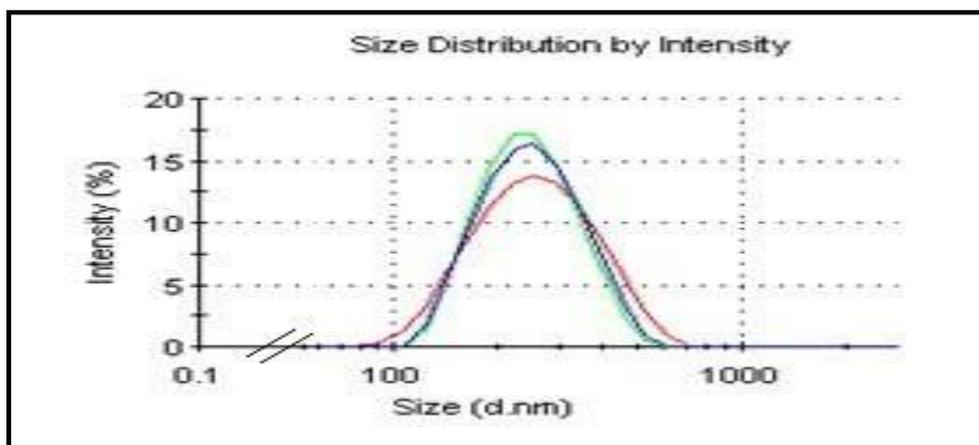


Fig. 2 Distribución de tamaño de las nanopartículas cargadas con clorhexidina.

6.2 Evaluación clínica de clorhexidina libre y nanoencapsulada

Los resultados observados fueron obtenidos mediante la totalización de los índices finales, con la posterior comparación entre la formulación de nanopartículas con clorhexidina al 0.12%, el control positivo y el control negativo.

En la Tabla 4 se observa la media de los índices de placa finales tanto de los grupos 1 (agua estéril), 2 (clorhexidina libre) y 3 (clorhexidina encapsulada en nanopartículas). La media

en el grupo control 1 (agua estéril) del índice de placa al final fue de 2.17, en el control 2 (clorhexidina libre) correspondía a 1.73, mientras en el grupo 3 (clorhexidina encapsulada en nanopartículas) fue de 1.17, observándose en esta última una marcada disminución comparada con ambos grupos control. Particularmente, el grupo que presentó mayor índice de placa a las 48 h fue el grupo control 1 (agua estéril), con una desviación estándar de 1.14.

Tabla 4. Estadística descriptiva del índice de placa según el grupo de estudio, diciembre de 2013

Parámetro	Grupo		
	1 ^a	2 ^b	3 ^c
Media	2.17	1.73	1.17
Mediana	2.38	1.82	1.32
Desviación estándar	1.14	0.93	0.62
Varianza	1.30	0.87	0.39
Mínimo	0	0	0
Máximo	3.46	2.94	1.99
Rango	3.46	2.94	1.99
IC:1- α =0.95	1.52	1.20	0.81
	2.83	2.27	1.53

^a agua estéril, ^b clorhexidina en solución y ^c nanopartículas con clorhexidina.

Al realizar el análisis estadístico para verificar si existía diferencia entre los promedios finales (Fig.3 Diagrama de barras) se observó que en los grupos control 2 (clorhexidina libre) y grupo experimental 3 (clorhexidina encapsulada en nanopartículas) presentaron un menor índice de placa a las 48 h con respecto al grupo 1.

El grupo que presentó el menor índice de placa a las 48 h fue el grupo de las nanopartículas con clorhexidina, con una desviación estándar de 0.62, lo que indica que las nanopartículas poliméricas prolongaron la acción antiplaca de la clorhexidina en este período.

En la figura 3 se observa la comparación de promedios entre los grupos de estudio, observándose un menor índice de placa en el grupo clorhexidina en solución y clorhexidina en nanopartículas, siendo el índice de placa del grupo clorhexidina en nanopartículas el que presentó la mayor reducción en promedio.

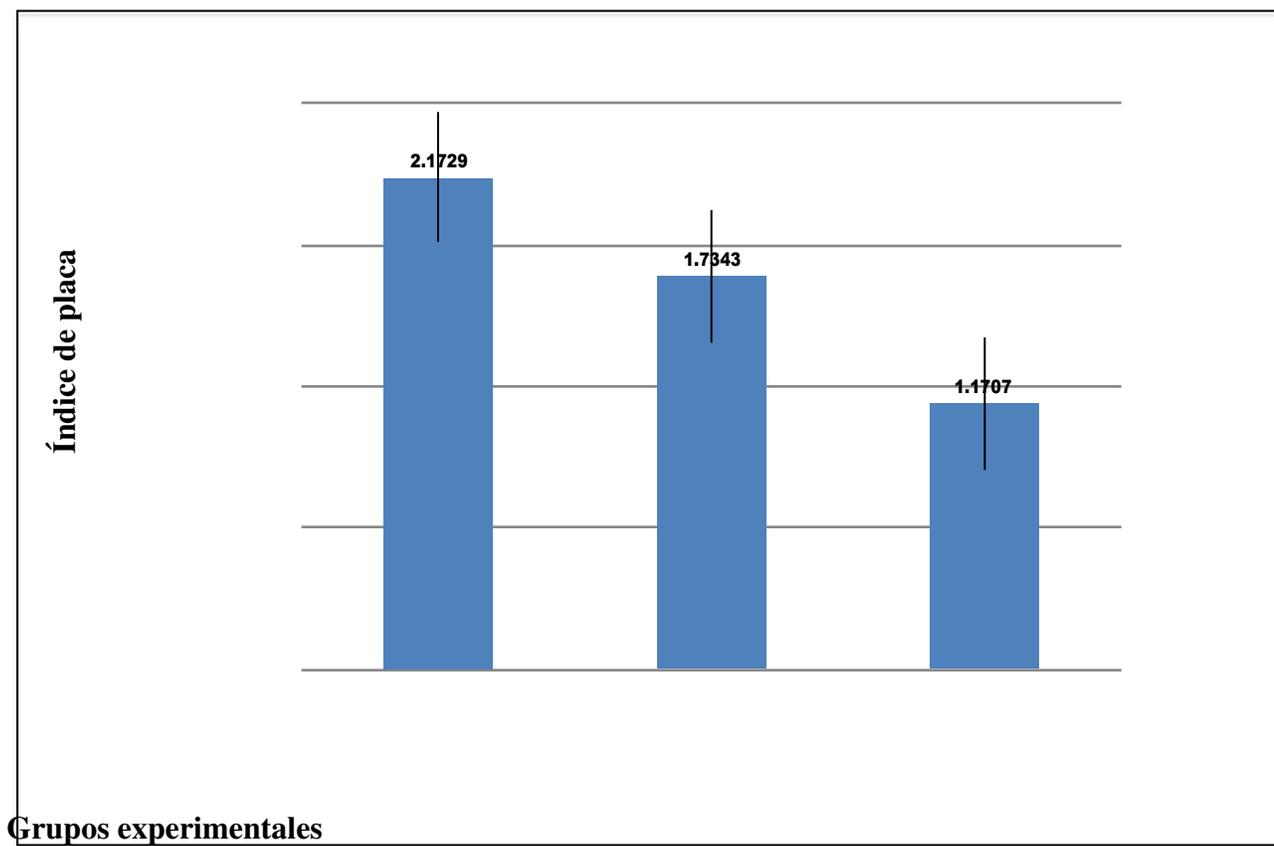
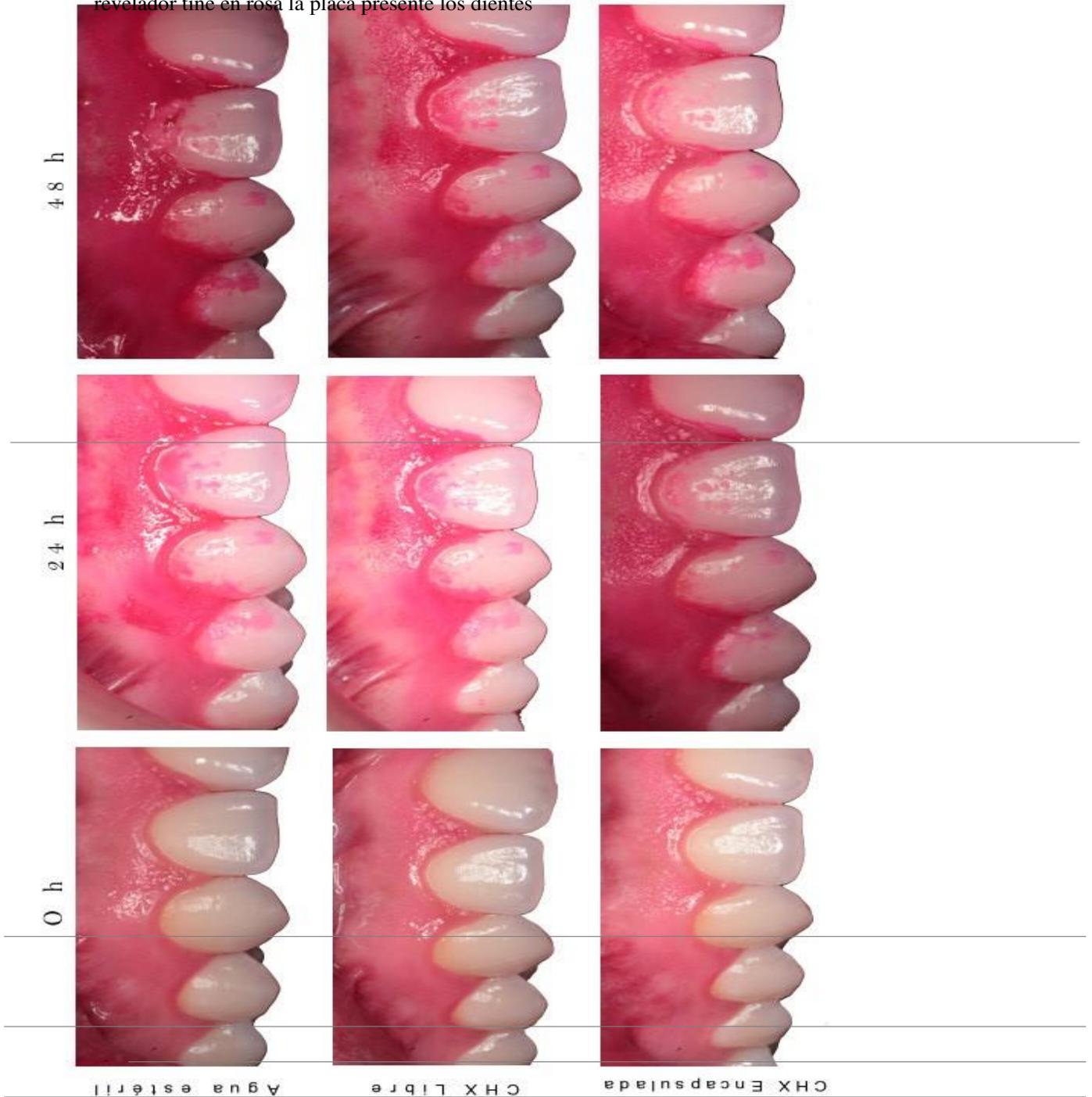


Figura 3 Media aritmética del índice de placa según el grupo de estudio, diciembre de 2013

Finalmente, en la Fig.4 se muestran fotografías obtenidas durante el estudio clínico a las 24h y 48h. Se puede apreciar que, a las 48h, el grupo1 mostro una mayor presencia de placa, la cual fue puesta en evidencia por el agente revelador (tinción rosa). Por su parte, el grupo 3 mostró una menor tinción, es decir, menor presencia de placa dental.

Figura 4 Estudio clínico (48h) del índice de placa de las formulaciones:

a) Agua estéril b) Clorhexidina en solución c) Clorhexidina en nanopartículas. El agente revelador tiñe en rosa la placa presente los dientes



Las tablas 5 y 6 contienen el análisis de varianza y la prueba HSD de Tukey, respectivamente, realizadas a los datos generados en el estudio clínico.

Tabla 5 Análisis de varianza de los grupos de estudio, (diciembre de 2013)

	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media de Cuadrados	Prueba F	Valor p
Entre Grupos	9.216	2	4.608	6.232	.005
Dentro de los Grupos	28.099	38	.739		
Total	37.315	40			

Tabla 6 Prueba HSD de Tukey de los grupos de estudio, (diciembre de 2013)

Grupo	Diferencia de Medias	Error Estándar	Valor p	IC: 1- α =0.95		
				Límite Inferior	Límite Superior	
1	2	.606	0.3312	.1740	.202	1.413
	3	1.169	0.3312	.0031	.362	1.977
2	1	-.606	0.3312	.1740	-1.413	.202
	3	.564	0.3250	.2059	-.229	1.356
3	1	-1.169	0.3312	.0031	-1.977	-.362
	2	-.564	0.3250	.2059	-1.356	.229

a) Grupo 1 (agua estéril) b) Grupo 2 (clorhexidina en solución) c) Clorhexidina en nanopartículas.

7. DISCUSIÓN

A pesar de que la mayoría de las personas dicen cepillarse los dientes dos veces al día, la prevalencia de gingivitis y periodontitis crónica permanece de forma alta en la mayoría de las poblaciones (*Albandar JM & Rams TE, 2002*). El mantenimiento de un control de placa efectivo es difícil cuando se usan solamente procedimientos mecánicos y dentífricos convencionales (*Morris A et al 2001*). El foco de prevención de la enfermedad periodontal crónica ha sido por muchos años el mantenimiento de la salud gingival a través del control efectivo de la placa supragingival. Ya que muchas personas tienen dificultades para mantener bajos los niveles de placa, se han incorporado agentes químicos en los productos de higiene oral para mejorar el procedimiento físico del cepillado.

Numerosos estudios han mostrado que el efecto de la clorhexidina es dependiente de su sustantividad encontrando resultados positivos al evaluarse sus efectos sobre la gingivitis y la periodontitis (*Bonesvoll P & Olsen I, 1974*).

En el presente estudio se prepararon nanopartículas poliméricas con clorhexidina incorporada y se evaluó su efecto antiplaca en comparación a una solución de clorhexidina, es decir, el agente antiplaca libre. Las nanopartículas presentaron un tamaño promedio de partícula de 211 nm, lo cual puede facilitar que tengan una buena interacción con los sustratos biológicos de la cavidad oral. Además, el índice de polidispersidad reportado (0.099) indica de la formulación de nanopartículas presenta una población con una distribución homogénea, lo que puede favorecer un desempeño uniforme de las nanopartículas al liberar la clorhexidina.

En cuanto al ensayo clínico, la presente investigación demostró que un enjuague con clorhexidina cargada en nanopartículas poliméricas, incorporada a un régimen de nulo control mecánico de placa en el cual se excluyó el cepillado y uso de un dentífrico, durante un período de 48 h, pudo reducir de forma clínica pero no estadísticamente significativa los niveles de placa,

por encima del grupo de clorhexidina en solución. El grupo de clorhexidina en nanopartículas obtuvo una media en el índice de placa al término del estudio de 1.17, lo cual es estadísticamente significativo en comparación con el grupo de agua estéril, el cual reportó una media en el índice de placa de 2.17 respectivamente. Sin embargo, el grupo de clorhexidina en solución también reveló un índice de placa menor en comparación con el grupo agua estéril teniendo una media en el índice de placa de 1.73 (Tabla 2).

Así los resultados del presente estudio demostraron una reducción clínica del índice de placa, sin embargo, presentaron una diferencia estadísticamente no significativa en comparación con otros estudios. Lo anterior puede deberse al tamaño de la muestra y población del estudio, y al tiempo de la evaluación. Probablemente teniendo una muestra más grande y un período mayor de tiempo, los resultados pudieran ser estadísticamente más concluyentes.

Un importante hallazgo en el presente estudio de investigación es que la incorporación de clorhexidina a nanopartículas poliméricas tuvo un efecto benéfico en la sustentividad de dicha solución, por lo tanto, un efecto benéfico también en la reducción de la placa en todas las áreas de los dientes evaluados, lo cual muestra resultados más favorables que se encontraron en el grupo clorhexidina libre.

8. CONCLUSIONES

1. Tanto el grupo de clorhexidina en solución y el grupo de clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas obtuvieron menores índices de placa a las a las 48h, en comparación con el grupo de agua estéril.
2. El grupo de clorhexidina encapsulada en nanopartículas poliméricas tuvo clínicamente mejores resultados que el grupo de clorhexidina en solución y que el grupo de agua estéril, sin embargo, la diferencia no fue evidente estadísticamente.
3. Se comprueba la hipótesis de que la utilización de nanopartículas poliméricas como vehículo mejora la sustentividad de la clorhexidina (en relación con la clorhexidina no encapsulada) en pacientes que no realizan control mecánico de higiene bucal por un periodo de 48 hrs, entonces su efecto antiplaca aumentó y los niveles de placa se controlaron, adecuadamente, durante este periodo.
4. La clorhexidina es un agente con propiedades antibacterianas y antiplaca, que incorporado a nanopartículas poliméricas pudo haberse aumentado su sustentividad por un periodo de 48 h, lo cual favorece su efectividad en el control de la placa supragingival.

En conclusión, la clorhexidina en nanopartículas tiene una potencial aplicación para el control de placa dentobacteriana de acuerdo a la evidencia clínica presentada en este estudio.

9. APÉNDICES

APÉNDICE I

CONSENTIMIENTO INFORMADO

¿Cuáles son los posibles riesgos e inconvenientes de participar en el estudio?

- Usted podría presentar incomodidad durante el examen de su encía.
- Existe un riesgo insignificante de irritación de los tejidos blandos/encía y una hipersensibilidad transitoria de los dientes con el uso de clorhexidina. Estos síntomas se resolverán al paso de los días.

¿Cómo se preservará la confidencialidad de mis datos?

Durante el estudio nosotros le aseguramos la protección de la información personal de cada uno de los participantes. Ninguno de los participantes se identificará con su nombre en ningún reporte o publicaciones del estudio. Cada paciente recibirá un número o código único, y cualquier información acerca de la participación así como las fotografías y los resultados del análisis mencionado en los documentos del estudio se relacionarán con este código.

¿Qué pasa si abandono mi consentimiento de participar en el estudio antes de que este termine?

Usted puede decidir abandonar el estudio en cualquier momento, su retiro del estudio no resultará en ninguna penalidad. El equipo de estudio también puede removerlo en cualquier momento, si se pone en evidencia que el participante no está siguiendo las instrucciones indicadas al comienzo, si se presenta un evento adverso inesperado o si no puede completar el período del estudio.

¿A quién puedo contactar en caso de que tenga alguna pregunta en relación al estudio?

Usted tiene el derecho de preguntar cualquier duda en relación al estudio y obtener las respuestas. Si tiene alguna por favor contacte a alguno de los miembros del equipo.

Título del estudio: Evaluación de la actividad antiplaca de nanopartículas cargadas con clorhexidina. Estudio clínico.

Investigador principal: Dra. Tania Nayeli Hernandez Vela.

Forma de consentimiento informado:

He leído la información anteriormente mencionada. Tuve la oportunidad de realizar cualquier pregunta acerca del estudio y me fueron contestadas de forma satisfactoria. Doy mi consentimiento informado voluntario de participar en el estudio.

Firma del participante

Nombre del participante

Fecha

Firma de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

Nombre de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

APÉNDICE II

FORMA DE SELECCIÓN INICIAL

NOMBRE DEL PARTICIPANTE

FECHA _____

NÚMERO DEL SUJETO _____

SEXO _____

EDAD _____

1. ¿El participante tiene 18 años o más? SI _____ NO _____
2. ¿El participante está disponible para completar el tiempo de duración del estudio?
SI _____ NO _____
3. ¿El participante tiene buena salud general? SI _____ NO _____
4. ¿El participante tiene 20 dientes permanentes naturales en boca (excluyendo 3º molares)?
SI _____ NO _____
5. ¿El participante tiene gingivitis o periodontitis? SI _____ NO _____
6. ¿El participante firmó una forma de consentimiento informado? SI _____ NO _____

Si respondió NO a alguna de las preguntas el participante no es elegible para el estudio. Si respondió Si a todo favor conteste las siguientes preguntas de la A a la L:

- A. SI / NO, ¿El participante ha usado de forma crónica (es decir, por 2 semanas o más), enjuague bucal con Clorhexidina por 1 mes antes del tratamiento?
- B. SI / NO, ¿El participante tiene alguna patología oral grave, que incluya caries extensa, restauración extensa, cantidades muy grandes de placa y cálculo, o algún tumor blando o duro en la cavidad oral?
- C. SI / NO, ¿Algún participante tiene periodontitis (Examen de sondaje con más o igual a 5 mm de profundidad)?
- D. SI / NO, ¿El participante tiene historia de Periodontitis crónica, agresiva o gingivitis ulcerativa necrosante?

- E. SI / NO, ¿El paciente se realizó algún tratamiento endodóntico y periodontal diferente a profilaxis 6 meses antes del inicio del estudio?
- F. SI / NO, ¿El participante tiene aparatos de ortodoncia o dentaduras parciales removibles?
- G. SI / NO, ¿El paciente tiene alguna enfermedad orgánica significativa o inestable?
- H. SI / NO, ¿El paciente tiene algún problema en la cicatrización como desórdenes del tejido conectivo; sujetos con soplos cardíacos, ¿historia de fiebre reumática, enfermedad valvular o prótesis de alguna articulación que necesite profilaxis antibiótica?
- I. SI / NO, ¿Si es mujer, está embarazada o lactando?
- J. SI / NO, ¿Tiene alguna enfermedad infecciosa como hepatitis, alguna inmunodeficiencia viral o tuberculosis?
- K. SI / NO, ¿Ha sido diagnosticado con VIH?
- L. SI / NO, ¿Es alérgico a productos de higiene oral?

Si la respuesta a alguna pregunta de la A-L es SI, no es elegible para el estudio. El sujeto que si sea elegible debe contestar la pregunta 7.

7. ¿El paciente es elegible para el estudio? SI _____ NO _____

FECHA

APÉNDICE III
CUESTIONARIO DE SALUD

Nombre: _____

Fecha: _____

Fecha de nacimiento: _____ Raza: _____ Fumador: SI () NO ()

HISTORIA MÉDICA

Nombre del médico: _____ N.º de teléfono: _____

Fecha de la última visita: _____ Contacto de emergencia: _____

N.º de teléfono: _____

¿Se ha realizado alguna cirugía importante? SI () NO ()

Si respondió SI, explique _____

¿Está usted siendo tratado actualmente por un médico? SI () NO ()

Si respondió SI, explique _____

Por favor verifique si ha sido tratado o le han diagnosticado alguna de las siguientes enfermedades:

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Sangrado anormal | <input type="checkbox"/> Anemia |
| <input type="checkbox"/> Hemofilia | <input type="checkbox"/> Sida |
| <input type="checkbox"/> Transfusiones sanguíneas | <input type="checkbox"/> Artritis |
| <input type="checkbox"/> Ulceras / colitis | <input type="checkbox"/> Glaucoma |
| <input type="checkbox"/> Problemas cardíacos | <input type="checkbox"/> Adicción a drogas |
| <input type="checkbox"/> Epilepsia / convulsiones | <input type="checkbox"/> Problemas en la piel |
| <input type="checkbox"/> Asma o fiebre del heno | <input type="checkbox"/> Desórdenes de la sangre |
| <input type="checkbox"/> Radio o quimioterapia | <input type="checkbox"/> Tumores o cáncer |
| <input type="checkbox"/> Diabetes (problemas del azúcar) | <input type="checkbox"/> Enfermedades del riñon o hígado |
| <input type="checkbox"/> Dificultad para respirar | <input type="checkbox"/> Hepatitis/ictericia |
| <input type="checkbox"/> Problemas en los pulmones | <input type="checkbox"/> Enfisema |
| <input type="checkbox"/> Presión sanguínea alta o baja | <input type="checkbox"/> Fiebre reumática |

Por favor describa alguna de las condiciones mencionadas arriba:

¿Tiene historia de alergias a algún producto de higiene oral, productos de cuidado personal o a sus ingredientes? SI () NO ()

Si la respuesta es SI, por favor especifique:

¿Toma usted algún medicamento? Si es SI, favor llene el cuadro a continuación:

Coloque los medicamentos que está tomando.

Nombre del medicamento	Cantidad o dosis	Frecuencia (cada cuanto la toma)	Razón por la que lo toma

HISTORIA DENTAL

Nombre del dentista _____ Teléfono: _____

¿Con que frecuencia visita al dentista?

Fecha de la última limpieza dental _____

MUJERES SOLAMENTE

¿Está embarazada? SI _____ NO _____. Si respondió SI, cuantos meses tiene _____

¿Está amamantando actualmente? SI _____ NO _____

Yo entiendo que la información que he proporcionado es correcta en lo que respecta a mi conocimiento. También entiendo que esta información se mantendrá en estricta confidencialidad, y es mi responsabilidad informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud. Entiendo que mi participación en este estudio es voluntaria y que mi salida del mismo es mi decisión.

Firma

Fecha

APÉNDICE IV
FORMATO DE TOMA DE MUESTRAS

FICHA DE IDENTIDAD

GRUPO:

FECHA:

Nombre:

Edad:

Genero:

Dirección:

Teléfono:

HORARIO DE CITAS:

1. 8:00 am

2. 2:00 pm

3. 8:00 pm

4. 8:00 am

5. 2:00 pm

6. 8:00 pm

7. 8:00 am

INDICACIONES:

Usted accedió a participar en un estudio para probar un enjuague bucal, para esto se le pide amablemente que cumpla con las siguientes indicaciones, las cuales son de vital importancia para cumplir el objetivo:

1. Asistir puntualmente a las citas en el horario establecido.
2. NO realizar cepillado dental, enjuagues con cualquier producto de higiene oral que no haya sido proporcionado por la institución.
3. Se pide evitar el consumo de alimentos fibrosos (manzana, peras, chicle).

Al finalizar el estudio, se le realizará una limpieza y se le obsequiará un *Kit* de Higiene oral.

FORMATO DE ÍNDICE DE PLACA

Descripción: _____ Fecha: _____

Nombre del paciente _____

Código N.º _____ Firma del examinador dentista _____

DIENTES SUPERIORES

Diente # 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

V. Mesial

V. Medio

V. Distal

P. Mesial

P. Medio

P. Distal

SUMA PARCIAL

SUMA TOTAL

DIENTES INFERIORES

Diente # 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

V. Mesial

V. Medio

V. Distal

L. Mesial

L. Medio

L. Distal

SUMA PARCIAL

SUMA ÍNDICE DE PLACA

%

RESULTADO= _____ = _____ =

TOTAL

ÍNDICE DE PLACA DE TURESKY (1970)

Nivel	Descripción
0	Ausencia de placa.
1	Depósitos separados de placa en el margen cervical del diente.
2	Una delgada y continua banda de placa (hasta 1 mm) en el margen cervical de diente.
3	Una banda de placa con un espesor mayor a 1 mm pero que cubre menos de 1/3 de la corona del diente.
4	La placa cubre al menos 1/3 pero menos de 2/3 de la corona del diente.
5	La placa cubre 2/3 o más de la corona del diente.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Addy M, Moran JM**, Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. *Periodontol 2000*; 15:52-4, 1997.
2. **Albandar JM, Rams TE**, Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol 2000*; 9:7-10, 2002.
3. **Anderson JM & Shive MS**, Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv. Drug Deliv. Rev*; 64: 72–82, 2012.
4. **Baehni PC, Takeuchi Y**, Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis*, 2003 9 Suppl 1:23-9.
5. **Bascones A, Morante S**, Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodon Implantol*; 18: 31-59, 2006.
6. **Bascones A, Morante S, Pérez E**, Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal, *Av Periodon Implantol*; 14:101-114, 2002.
7. **Betancourth M, Arce R, Botero J, Jaramillo A**, Microorganismos inusuales en surcos y bolsas periodontales. *Colomb Med*; 37:1, 2006.
8. **Bonesvoll P, Lökken P, Rölla G, Paus PN**, Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch. Oral Biol*; 19:209-212, 1974a.
9. **Bonesvoll P, Gjermo P**, A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Arch Oral Biol*; 23:289-294, 1978.
10. **Bonesvoll P, Lökken P, Rolla G**. Influence of concentration, time, temperature, and pH on the retention of chlorhexidine in the human. *Arch Oral Biol*; 19: 1025-1029, 1974b.
11. **Bonesvoll P, Olsen I**, Influence of teeth, plaque and dentures on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity, *J Clin Periodontol*; 1: 214-221, 1974.
12. **Claydon N, Manning CM, Darby, Dowman A, Ridge D, Smith S, Addy M**, The effect of polyvinylpyrrolidone on the clinical activity of 0.09 % and 0.2% chlorhexidine mouthrinses. *J Clin Periodontol*; 28: 1037-44, 2001.
13. **Damgé C, Maincent P, Ubrich N**, Oral delivery insuline of associated to polymeric nanoparticles in diabetic rats. *J Control Release*; 117:163-170 2007.

14. **De Campos A, Sánchez A, Alonso M**, Chitosan nanoparticles: A new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to Cyclosporine. *A Int J Pharm*; 224:159, 2001.
15. **Fischman SL**. Current status of indices of plaque. *J Clin Periodontology*; 13:371, 1986.
16. **Flotra L**, Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodontal Res Suppl*; 12:41, 1973.
17. **Galindo - Rodríguez S, E. Allémann, E. Doelker, H. Fessi**, Versatility of three techniques for preparing nanoparticles of different sizes and drug loading. *J Drug Deliv, Sci Technol Submitte*, 2005.
18. **Giuliana G, Pizzo G, Milici M, Musobho G, Giangreco R**. *In vitro* antifungal properties of mouthrinses containing antimicrobial agents. *J Periodontal Res*; 68: 729-33, 1997.
19. **Hancock EB, Newell DH**, Preventive strategies and supportive treatment. *Periodontol 2000*; 25: 59-76, 2001.
20. **Hilley A, Toth I, Shaw AJ, Florence AT**, Co-polymerised peptide particles (cpp) I: synthesis, characterisation and *in vitro* studies on a novel oral nanoparticle delivery system. *J Control Release*; 41:271-281, 1996.
21. **Hunter LY, Addy M**, Chlorhexidine gluconate mouthwash in the management of minor aphthous ulceration. A double blind, placebo-controlled cross-over trial, *Br Dent J*; 162: 106-9, 1987.
22. **Kornman KS**, Controlled release local delivery antimicrobials in periodontics. Prospects for the future, *J Periodontol*; 64: 782- 791, 1993.
23. **Löe H, Schiott CR**, The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodont Res*; 5: 79-83, 1970.
24. **Manau Navarro C, Guasch Serra S**, Métodos de control de la placa bacteriana. *Odontología preventiva y comunitaria: Principios, métodos y aplicaciones*; 2a ed, Masson, Barcelona, 2003.
25. **Mohanraj VJ, Chen Y**, Nanoparticles –A review. *Trop J Pharm Res*; 5: 561-573, 2006.
26. **Morris A, Steele J, White D**, The oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. A guide to the UK adult dental health survey 1998. *The British Dental Association*; 47–53, 2001.

27. **Nagpal K, Singh SK, Mishra DN**, Chitosan Nanoparticles: A Promising System in Novel Chitosan Nanoparticles: A Promising System in Novel. *Drug Delivery Chem. Pharm. Bull*; 58: 1423—1430, 2010.
28. **Niwa T, Takeuchi H, Hino T, Kunou N, Kawashima Y**, Preparations of biodegradable nanospheres of water-soluble and insoluble drugs with D,L-lactide/glycolide copolymer by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method, and the drug release behavior. *J Control Rel*; 25:89–98, 1993.
29. **Oosterwaal PJ, Mikx FH, van t Hof MA, Renggli HH**. Short-term bactericidal activity of chlorhexidine gel, stannous fluoride gel and amine fluoride gel tested in periodontal pockets. *J Clin Periodontol*; 18: 97-100, 1991.
30. **Quirynen M, Teughels W, De Soete M, Van Steenberghe D**, Antisépticos tópicos y antibióticos en la terapia inicial de la periodontitis crónica del adulto: aspectos microbiológicos. *Periodontology 2000 (Ed Esp)*; Vol. 3: 72-90, 2003.
31. **Rölla G, Löe H, Schiott CR**, Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol* ; 16: 1109-1116, 1971.
32. **Rölla G, Löe H, Schiott CR**, The affinity of chlorhexidine for hidroxiapatite and salivary mucins. *J Periodont Res*; 5:90-95, 1970.
33. **Sakuma S, Suzuki N, Suso R, Hiwatari K, Kishida A, Akashi M**, Optimized chemical structure of nanoparticles as carriers for oral delivery of salmon calcitonin. *Int J Pharm*; 239:185-195, 2009.
34. **Segundo-Piñon E, Jaques Y, Ganem-Quintanar A, Quintanar Guerrero D**, Optimization of a process to obtain nanoparticles of triclosan for periodontal treatment. *Proceed. Inter. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater Controlled Release Society*; 27:8133, 2000.
35. **Stabholz A, Sela MN, Friedman M, Golomb G, Solskolne A**, Clinical and microbiological effects of sustained release chlorhexidine in periodontal pockets. *J Clin Periodontol*; 13: 783-788, 1986.
36. **Straub AM, Suvan J, Lang NP, Mombelli A, Braman V, Massaro J, Friden P, Tonetti MS**, Phase 1 evaluation of a local delivery device releasing silver ions in periodontal pockets: safety, pharmacokinetics and bioavailability. *J of Periodon Res*; 36:187–193, 2001.
- 37.- **Schwach-Abdellaoui K, Vivien-Castioni N, Gurny R**, Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. *Eur J of Pharmaeu and Biopharmaceu*; 83-99, 2000

38. **Tsuchiya H, Miyazaki T, Ohmoto S**, High-performance liquid chromatographic analysis of chlorhexidine in saliva after mouthrinsing. *Caries Res*; 33: 156-163, 1999.
39. **Turesky, S., Gilmore, ND, Glickman I**, Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamine C. *Journal of Periodontology*; 41: 41-43, 1970.
40. **Van Der Weijden F, Slot D**, Oral hygiene in the prevention of periodontal diseases: the evidence. *Periodontology 2000*; 55: 104–123, 2011.
41. **Veksler AE, Kayouz GS, Newman MG**, Reduction of salivary bacteria by pre-procedural rinses with chlorhexidine 0.12%. *J Periodontol*; 62: 649-51, 1991.

11. RESUMEN BIOGRÁFICO

TANIA NAYELI HERNANDEZ VELA

Candidata para el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas con Orientación en
Periodoncia con Implantología

Tesis: ESTUDIO CLÍNICO DE LA ACTIVIDAD ANTIPLACA DE LA CLORHEXIDINA
INCORPORADA A NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.

Campo del estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León, México, el 19 de septiembre de 1984.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con grado de Cirujano
Dentista en el 2006.