

Trabajos originales

Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana
Centro de Investigaciones Biomédicas “Victoria de Girón”
Facultad de Estomatología “Raúl González Sánchez”

Efecto de un extracto de *Mangifera indica* L. (Vimang) sobre la enfermedad periodontal por ligadura en perros beagle

Dra. Bárbara E. García Triana, Dr José C. García Piñeiro, Lic. Roberto de la Peña Pino, Dra. Amelia L. García Montes de Oca, Dr. Alberto Saldaña Bernabeu, Dr. Víctor Rodríguez Sosa, Dra. Nereida Riesgo Lovaina y Dra. Maritza Osorio Núñez

Resumen

Se evaluó el efecto protector de un extracto de *Mangifera indica* L. (Vimang), con propiedades antioxidantes, sobre la base de la existencia de evidencias de la efectividad de las terapias antioxidantes en la enfermedad periodontal. Se utilizaron 10 perros beagle a los que se les indujo la enfermedad periodontal por ligadura, en 3 dientes de las hemiarcadas derechas durante 21 d. Los dientes contralaterales constituyeron los controles sanos. A 5 perros escogidos al azar, se les aplicó una solución de Vimang en el surco gingival, 2 veces al día. El resto de los animales recibió el vehículo en igual forma y frecuencia. La aplicación del extracto redujo significativamente el incremento del índice gingival, la profundidad del surco gingival y la pérdida ósea. Se concluyó que la administración tópica del Vimang atenúa el desarrollo de la enfermedad periodontal en el modelo de inducción por ligadura en perros.

Palabras clave: Enfermedad periodontal, estrés oxidativo, mangiferina, antioxidantes, perros, ligadura, Vimang.

Las enfermedades periodontales se caracterizan por la destrucción de los tejidos de soporte del diente, las cuales se consideran desencadenadas por la presencia de bacterias específicas y sus productos. La respuesta del hospedero es esencial en la progresión de la enfermedad. Por ello actualmente se evalúa la utilidad del control de esta respuesta como complemento a la terapéutica clásica.¹ La respuesta del hospedero incluye: liberación y activación de proteasas, liberación de citocinas y derivados del ácido araquidónico y la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), entre otros.^{1,2} Existen evidencias acerca del posible papel de las ERO en el daño periodontal.³⁻⁶ Algunos compuestos con propiedades antioxidantes son efectivos en la prevención y el tratamiento de la enfermedad periodontal (EP).^{7,8}

Por las conocidas propiedades de un nuevo antioxidante natural, del extracto de *Mangifera indica* L. (Vimang),⁹⁻¹² se podría esperar un beneficio de su uso terapéutico en la enfermedad periodontal. Esta formulación se prepara a partir de la corteza del árbol *Mangifera indica* L. Se ha reportado el uso de las hojas y los extractos de hojas de esta planta para la higiene bucal, práctica que ha mostrado actividad antibacteriana *in vivo* contra posibles patógenos periodontales como *P. intermedia* y *P. gingivalis*.⁹

El Vimang contiene alrededor de 60 % de flavonoides polifenólicos y otros microelementos, que le confieren un alto potencial antioxidante a una concentración muy baja.¹⁰ La formulación también ha mostrado propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias *in vivo*.¹² Esto sugiere el potencial terapéutico de este extracto en el tratamiento de enfermedades inflamatorias como la EP. Basado en estos datos se decidió evaluar el efecto del Vimang sobre el desarrollo de la enfermedad periodontal por ligadura, en perros beagle.

Métodos

Se utilizó el modelo de enfermedad periodontal por ligadura reportado en la literatura.¹³ Fueron anestesiados con pentobarbital sódico intravenoso (30 mg/kg de peso), 10 perros beagle machos, entre 8 y 10 meses de edad (suministrados por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio [CENPALAB]). Se estudiaron los dientes: cuartos premolares y primeros molares superiores y los cuartos premolares inferiores de las hemiarquadas derechas e izquierdas. A los dientes de las hemiarquadas derechas, se les colocó una ligadura de hilo de algodón en el interior del surco gingival que se mantuvo por 21 d. Los dientes contralaterales constituyeron los controles sanos. A 5 de los animales elegidos al azar, se les aplicó con jeringuilla una solución de Vimang 1 % (p/v) en el interior del surco gingival de los dientes en estudio, 2 veces al día. El resto recibió el vehículo (suero fisiológico) en igual forma y frecuencia. Al inicio y final del experimento, se determinó para cada diente en estudio el índice gingival de *Löe* y *Silness*¹⁴ y la profundidad del surco gingival con sonda periodontal en 4 puntos (3 vestibulares y 1 lingual). La pérdida ósea se registró solo al final del experimento, previo levantamiento de un colgajo vestibular en los dientes superiores en estudio. Se midió entonces con pie de rey, la distancia en milímetros desde la unión amelocementaria hasta la cresta ósea, en 3 puntos de la cara vestibular (mesial, distal y cara libre).

Para el análisis estadístico se calculó la media y desviación estándar para cada grupo de dientes y se realizaron comparaciones (análisis de la varianza y análisis de la varianza para observaciones repetidas) mediante el programa estadístico STATISTICA para Windows en su versión 2000. Se fijó un nivel de significación de 0,05.

El experimento se ejecutó cumpliendo los requisitos exigidos en el Código de Ética para el trabajo con animales de laboratorio y el Código de las Buenas Prácticas de Laboratorio de Toxicología Experimental (CENPALAB, 1992). El proyecto fue aprobado previamente por la Comisión de Ética del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”.

Resultados

Índice gingival (IG): al inicio (día 0), no se presentaron diferencias entre los grupos de dientes con respecto al IG (tabla 1), lo cual fue corroborado estadísticamente ($p > 0,05$). A los 21 d los dientes no ligados no mostraron diferencias con respecto al inicio del estudio, independientemente de que fueran tratados con vehículo ($0,93 \pm 0,25$) o Vimang ($1,06 \pm 0,26$) ($p > 0,05$). Los dientes ligados, por el contrario, mostraron un aumento significativo del IG al final del experimento en ambos grupos ($2,87 \pm 0,99$ en el vehículo y $2,33 \pm 0,49$ en el Vimang) (tabla 1). No obstante, la diferencia entre el inicio y el final del experimento fue significativamente menor en los dientes tratados con Vimang.

Tabla 1. Índice gingival y profundidad del surco gingival (PSG) al inicio y al final del experimento en los diferentes grupos de dientes

Grupo de dientes	Índice gingival				PSG (mm)			
	día 0		21 d		día 0		21 d	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Ligado-vehículo	1,20 ^a	0,41	2,87 ^b	0,99	1,82 ^g	0,20	3,22 ^h	1,28
Ligado-Vimang	1,26 ^c	0,60	2,33 ^d	0,49	1,75 ⁱ	0,16	2,23 ^j	0,59
No-Ligado- vehículo	1,13	0,35	0,93 ^e	0,25	1,78	0,08	1,68 ^k	0,26
No-Ligado-Vimang	1,33	0,61	1,06 ^f	0,26	1,70	0,14	1,67 ^l	0,15

DE: desviación estándar, PSG: Profundidad del surco gingival.

Análisis estadístico: Análisis de la varianza para observaciones repetidas, Prueba LSD; (a-b): $p < 0,001$; (c-d): $p < 0,001$; (b-d): $p = 0,004$; (b-e): $p < 0,001$; (d-f): $p < 0,001$; (g-h): $p < 0,001$; (i-j): $p = 0,01$; (h-j): $p < 0,001$; (h-k): $p < 0,001$; (j-l): $p = 0,003$.

Profundidad del surco gingival (PSG): en las variaciones de las medias de la PSG obtenidas (tabla 1), se destaca nuevamente que se partió de una muestra homogénea. Los dientes no ligados de ambos grupos, Vimang y vehículo, no experimentaron cambios en la PSG a los 21 d ($1,68 \pm 0,26$ mm y $1,67 \pm 0,15$ mm, respectivamente). En el grupo de dientes ligados y tratados con vehículo se obtuvo a los 21 d, un valor de la media de $3,22 \pm 1,28$ mm. En los dientes ligados donde se utilizó el Vimang, el valor de la media fue de $2,23 \pm 0,59$ mm. La diferencia entre los tratamientos fue estadísticamente significativa ($p = 0,001$).

Pérdida ósea (PO): a los 21 d, en los dientes no ligados no se detectó PO, lo que atestigua el buen estado de salud periodontal de los animales utilizados (tabla 2). También se observó que los dientes ligados experimentaron una marcada pérdida ósea tanto en el grupo vehículo ($3,90 \pm 1,05$ mm), como en el grupo Vimang ($2,92 \pm 0,99$ mm). Por lo tanto, se destaca que la aplicación de la formulación Vimang disminuyó en 25 % la pérdida ósea con respecto al vehículo, lo cual resultó ser estadísticamente significativo ($p= 0,006$). Esto permite sostener que la aplicación del Vimang logró atenuar significativamente la pérdida ósea característica de este modelo experimental.

Tabla 2. Pérdida ósea en los dientes ligados y no-ligados según tratamiento

Tratamiento	Pérdida ósea (mm)			
	No-ligados		Ligados	
	Media	DE	Media	DE
vehículo	0 ^a	0	3,90 ^b	1,05
Vimang	0 ^c	0	2,92 ^d	0,99

DE: desviación estándar. Análisis estadístico: Análisis de la varianza (ANOVA), prueba LSD, (a-b) y (c-d): $p < 0,001$; (b-d): $p = 0,006$.

Discusión

La ausencia de diferencias en los valores del IG entre los grupos de dientes al inicio, corrobora la homogeneidad de la muestra (tabla 1). Los valores obtenidos son muy similares a los reportados por *Schroeder*¹³ ($1,2 \pm 0,2$ en los dientes superiores y $1,1 \pm 0,1$ en los dientes inferiores). La aplicación del Vimang logró atenuar el incremento de esta variable a los 21 d y por lo tanto de la inflamación del tejido gingival. Este resultado se explica por el poder antioxidante, antiinflamatorio e inmunomodulador descrito para esta formulación.¹⁰⁻¹² En ello se destaca su capacidad de inhibir mediadores de la inflamación como el TNF α y el ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1).^{11,12}

Los valores de PSG obtenidos al inicio del experimento (tabla 1), se corresponden con lo reportado para este modelo (1,35-1,45 mm).⁶ El valor de la media a los 21 d, en el grupo de dientes ligados y tratados con vehículo, fue mayor que 3 mm ($3,22 \pm 1,28$ mm) y por lo tanto puede considerarse patológico.¹⁵ Estos valores también se acercan a lo reportado para este modelo a los 15 y 28 d de colocada la ligadura (3,06 mm y 3,05 mm, respectivamente).⁶ En los dientes ligados donde se utilizó el Vimang, el valor de la media fue inferior a 3 mm ($2,23 \pm 0,59$ mm) y por lo tanto, puede considerarse dentro del rango

normal.

Un efecto terapéutico de 50 % de disminución de la profundidad de la bolsa logró *Hayashi*¹⁶ mediante la aplicación tópica de minociclina, irrigándola en el surco, en animales con periodontitis espontánea. Dadas las condiciones extremadamente agresivas de inducción de la periodontitis en el modelo de EP por ligadura;¹³ y teniendo en cuenta que el vehículo utilizado (suero fisiológico), es fácilmente disuelto por la saliva, los resultados obtenidos son alentadores y se considera que podrían ser mejorados utilizando un vehículo oleoso u otro sistema de liberación lenta del medicamento.

La pérdida ósea para este modelo de enfermedad periodontal experimental ha sido reportada en 1,5 a 2,5 mm medida al microscopio óptico¹³ y de 1,96 mm medida por radiografía de sustracción digital en monos.⁸ También se ha reportado una PO de 2,5 mm para premolares medida con pie de rey, en la periodontitis por ligadura en perros.⁶ Estos valores son inferiores a los obtenidos ($3,90 \pm 1,05$ mm para el grupo vehículo) (tabla 2). Esto puede deberse a que se utilizó el hilo doble con el objetivo de acortar el tiempo del experimento a 21 d y al mismo tiempo incrementar la PO de manera que se pudiera estudiar mejor el efecto de la aplicación del Vimang sobre esta variable. Se ha planteado que la reabsorción ósea en este modelo es debida a la activación de osteoclastos multinucleados, los cuales pueden ser activados directamente por sustancias derivadas de la placa dentobacteriana, entre otros, o indirectamente por mediadores liberados por las células involucradas en la respuesta inmune.¹³ Dentro de estos mediadores se consideran las ERO. Tanto los PMN, como los macrófagos e incluso los osteoclastos son capaces de producir ERO, cuando son estimulados por diferentes mecanismos.¹⁷⁻¹⁸ Por consiguiente, se explica que la utilización de una formulación con propiedades antioxidantes sea capaz de interferir en el desarrollo de la pérdida ósea. Es importante considerar otras propiedades del Vimang como son la inhibición de la liberación de diferentes mediadores de la respuesta inmunoinflamatoria, con probada participación en la activación de los osteoclastos.^{11,12,17}

Se concluyó que la administración tópica del Vimang 1 % en suero fisiológico, atenúa el desarrollo de la enfermedad periodontal por ligadura en perros beagle. Esto justifica la realización de ensayos clínicos en humanos para precisar la utilidad terapéutica de este compuesto en la EP. También debe estudiarse la influencia del Vimang sobre marcadores de estrés oxidativo en el ámbito periodontal.

Agradecimientos

A los doctores Alberto Núñez Sellés y René Delgado del Centro de Química Farmacéutica por suministrar el producto (Vimang) y la información científica relevante sobre este. El estudio fue financiado por el Programa Ramal de medicamentos del Ministerio de Salud Pública (MINSAP).

Effect of a *Mangifera indica* L extract (Vimang) on the ligature-induced periodontal disease in beagle dogs

Summary

The protective effect of *Mangifera indica* L. extract (Vimang) with antioxidant properties was evaluated based on the existence of evidences of the effectiveness of the antioxidant therapies on the periodontal disease. Ten beagle dogs were used. They were induced the periodontal disease by ligature in 3 teeth of the right hemiarch during 21 days. The contralateral teeth were the sound controls. Five dogs selected at random were applied a solution of Vimang in the gingival sulcus twice a day. The rest of the animals received the vehicle in the same way and frequency. The application of the extract significantly reduced the increase of the gingival index, the deepness of the gingival sulcus and the osteal loss. It was concluded that the topical administration of Vimang attenuates the development of the periodontal disease in the ligature-induced model in dogs.

Key words: Periodontal disease, oxidative stress, mangiferin, antioxidants, dogs, ligature, Vimang.

Referencias bibliográficas

1. Novak MJ, Donley TG. Using host response modifiers in the treatment of periodontal disease. *Pract Proced Aesthet Dent* 2002;14:3-10.
2. García BE, Vicedo A, García JC, Saldaña A. Enzimas proteolíticas relacionadas con la enfermedad periodontal inflamatoria. *Rev Cubana Estomatol* 1998;35:62-7.
3. García BE, García JC, Saldaña A. La peroxidación lipídica en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal inflamatoria. *Rev Cubana Estomatol* 1998;35:25-9.
4. Diab-Ladki R, Pellat B, Chanine R. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases. *Clin Oral Investig* 2003;7:103-7.
5. Fredriksson MI, Gustafsson A, Bergstrom KG, Asman BE. Constitutionally hyperreactive neutrophils in periodontitis. *J Periodontol* 2003;74:219-24.
6. García BE, García JC, Broche F, Rodríguez P, Rodríguez V, Saldaña A. La peroxidación lipídica en la enfermedad periodontal inflamatoria experimental. *Rev Cubana Estomatol* 1998;35:11-4.
7. Petelin M, Pavlica Z, Ivanusa T, Sentjurc M, Skaleric U. Local delivery of liposome-encapsulated superoxide dismutase and catalase suppress periodontal inflammation in beagles. *J Clin Periodontol* 2000;27:918-25.
8. Li K L, Vogel R, Jeffcoat MK, Alfano MC, Smith MA, Collins JG, et al. The effect of ketoprofen creams on periodontal disease in rhesus monkeys. *J Periodont Res* 1996;31:525-32.
9. Bairy I, Reesa S, Siddharth, Rao PS, Bhat M, Shivananda PG. Evaluation of antibacterial activity of *Mangifera indica* on anaerobic dental microflora based on in vivo studies. *Indian J Pathol Microbiol* 2002;45:307-10.
10. Martínez G, Delgado R, Pérez GD, Garrido G, Núñez-Selles AJ, León OS. Evaluation of the in vitro antioxidant activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytother Res* 2000;14:424-7.
11. García D, Delgado R, Ubeira FM, Leiro J. Modulation of rat macrophage function by the *Mangifera indica* L. extracts Vimang and mangiferin. *Intern Immunopharmacol* 2002;2:797-806.
12. Garrido G, González D, Delporte C, Backhouse N, Quintero G, Núñez-Selles AJ, et al. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytother Res* 2001;15:18-21.
13. Schroeder HE, Lindhe J. Conditions and pathological features of rapidly destructive experimental

periodontitis in dogs. *J Periodontol* 1980;51:6-19.

14. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy (I). Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-51.

15. Hoffmann T, Gaengler P. Epidemiology of periodontal disease in poodles. *J Small Anim Pract* 1996;37:309-16.

16. Hayashi K, Takada K, Hirasawa M. Clinical and microbiological effects of controlled-release local delivery of minocycline on periodontitis in dogs. *Am J Vet Res* 1998;59:464-7.

17. Yang S, Madyastha P, Bingel S, Ries W, Key L. A new superoxide-generating oxidase in murine osteoclasts. *J Biol Chem* 2001;276:5452-8.

18. Jung YJ, Lin AC, Ramos LM, Faddis BT, Chole RA. Nitric oxide synthase I mediates osteoclast activity *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Biochem* 2003;89:613-21.

Recibido: 9 de noviembre de 2004. Aprobado: 10 de diciembre de 2004.

Dra. *Bárbara E. García Triana*. Centro de Investigaciones Biomédicas. Ave. 31 esq. 146 No. 3102. Cubanacán, municipio Playa, CP 11600, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf. 878-3957. Correo electrónico: barbara.garcia@infomed.sld.cu