

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 799**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/40</b>	(2006.01)
<b>A61P 19/08</b>	(2006.01)
<b>A61P 43/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/49</b>	(2006.01)
<b>A61Q 11/00</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2013 PCT/IB2013/056791**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2014 WO14030132**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2013 E 13830936 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020 EP 2887932**

54 Título: **Utilización de estatinas para la enfermedad periodontal y regeneración ósea**

30 Prioridad:

**22.08.2012 US 201261692087 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**15.03.2021**

73 Titular/es:

**ROSENBERG MESSINA, DAVID RAFAEL (100.0%)  
Camino Otoñal 1382, Casa D, Las Condes  
Santiago 7591296, CL**

72 Inventor/es:

**ROSENBERG MESSINA, DAVID RAFAEL**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 811 799 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Utilización de estatinas para la enfermedad periodontal y regeneración ósea

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a composiciones tópicas que comprenden atorvastatina como el principal compuesto activo para usar en la prevención o tratamiento para la enfermedad periodontal.

10 **Antecedentes de la técnica****Control químico de las enfermedades periodontales.**

15 El papel y la utilidad de los productos químicos aplicados por vía tópica se ha investigado intensivamente en periodontología como un complemento a los procedimientos mecánicos para controlar la placa, asociados con la prevención y el tratamiento adyuvante de la enfermedad periodontal.

Enjuagues bucales.

20 Los aclarados orales, independientemente del agente químico utilizado, no penetran significativamente en el surco y/o bolsa periodontal (0,2 mm), de manera que su acción se limita al control de la placa supragingival y al tratamiento terapéutico de la gingivitis. Ni el nivel de profundidad de sondaje ni el nivel de inserción se alteran significativamente.

El agente antiplaca más investigado y eficaz es la clorhexidina.

25 Químicamente, la clorhexidina se corresponde con una bisbiguanidina con propiedades catiónicas. La molécula es simétrica, con dos anillos clorofenil y dos grupos de biguanidina conectados por una cadena central de hexametileno.

30 Se ha mostrado la interacción entre la molécula de clorhexidina cargada positivamente y las cargas negativas que se encuentran en la pared celular bacteriana. Esta incrementa la permeabilidad celular que pierde el equilibrio osmótico, produciendo por tanto la lisis bacteriana. También reduce la formación de la película sobre la superficie del diente y altera la adhesión bacteriana.

35 Una propiedad importante de la clorhexidina es su alta sustentividad, es decir, la larga asociación entre un material y un sustrato, incluso más larga de lo que se podría esperar con una simple deposición mecánica. Esto promueve la liberación lenta del agente al medio.

40 En el caso de la clorhexidina, su sustentividad es de 12 horas a una concentración del 0,12%. Por tanto, se considera un antibacteriano eficaz, bactericida en altas concentraciones y bacteriostático en bajas concentraciones según se diluye en saliva gradualmente.

45 Los resultados clínicos con respecto a los niveles disminuidos de placa bacteriana supragingival e inflamación gingival son del 55% y del 45%, respectivamente. Los primeros estudios clínicos emplearon una solución de 10 ml al 0,2%, equivalente a 20 mg de clorhexidina por uso. En la actualidad, de acuerdo con la recomendación de la Asociación dental americana (ADA; del inglés, American Dental Association), se utilizan 15 ml al 0,12%, equivalentes a 18 mg de clorhexidina. La cantidad de agente por uso es casi la misma y los resultados clínicos son similares. Su concentración mínima inhibitoria (CMI; en inglés, MIC) es de 8 a 500 mg/ml, estudiada para 52 bacterias aisladas de placa subgingival. A una concentración de 250 mg/ml, se inhibieron todas las bacterias aisladas de pacientes con periodontitis. Todos los CMI fueron más bajos que el nivel alcanzado mediante la aplicación por vía tópica. Con la clorhexidina no se ha detectado resistencia antimicrobiana.

55 Los efectos adversos descritos incluyen la aparición de efectos de coloración asociados con ciertos alimentos y el uso prolongado del antiséptico, alteración temporal del gusto y aumento relativo de los depósitos de cálculo.

60 Sus indicaciones son principalmente como un accesorio de la fase de higiene oral mecánica en el tratamiento periodontal, cuando un control mecánico eficaz y adecuado de la placa (procedimientos posquirúrgicos que incluyen cirugía periodontal, fijación intermaxilar, en individuos discapacitados mental y/o físicamente) es una dificultad real para alcanzar por el paciente, pacientes con compromiso sistémico, con predisposición a infecciones orales como candidiasis siempre asociada a una terapia antifúngica específica, pacientes inmunodeprimidos, en pacientes con riesgo elevado de desarrollo de caries (bajo control estricto y programa de prevención), para reducir la probabilidad de bactericemia durante procedimientos quirúrgicos (obsérvese que el valor de clorhexidina es más elevado cuando se utiliza antes de complicaciones orales en pacientes comprometidos sistémicamente y que su utilización no se considera como una monoterapia) en úlceras orales recurrentes, correctores fijos y extraíbles, en implantes.

65 Muchas sustancias tienen cierto grado de eficacia antimicrobiana "*in vitro*", pero su utilización en clínica como

enjuague bucal es totalmente impracticable, porque sería necesario enjuagar diez veces al día, debido a su falta de sustentividad y a que se diluyen y eliminan rápidamente por la saliva. Los agentes que no exhiben esta propiedad de sustentividad se clasifican como agentes de primera generación (ciertos antibióticos, compuestos de amonio cuaternario, compuestos fenólicos, compuestos de flúor, agentes oxigenantes, povidona yodada). Entre los

5 compuestos fenólicos, el único producto que se ha estudiado es Listerine®, cuyas composiciones incluyen aceites esenciales de timol, mentol, eucalipto y salicilato de metilo. El vehículo alcohólico de este agente alcanza una concentración extremadamente alta de 26,9% con un pH de 5,0. Esto explica los efectos adversos asociados con la sensación de quemazón como resultado del daño epitelial y la ulceración de la mucosa y alteraciones significativas en el gusto.

10 Los agentes químicos de segunda generación se caracterizan por una sustentividad elevada (retención del 25 al 30% después de cada enjuague bucal durante un minuto). Tales compuestos son activos *in situ* durante horas (clorhexidina, aminas de fluoruro, triclosán, cuando se combinan con ciertos compuestos). El triclosán es un bisfenol antiséptico, no iónico, con baja toxicidad y amplio espectro antibacteriano. Debido a que no se une bien a las superficies orales porque carece de una carga positiva fuerte, se han creado formulaciones que aumentan su capacidad para unirse a la placa y al diente (combinación con citrato de zinc para incrementar su potencial antiplaca y anticálculo, incorporación de un copolímero de metoxietileno y ácido maleico para aumentar su tiempo de retención). El triclosán a concentraciones de 0,2-0,5% y el citrato de zinc al 0,5-1% favorecen una reducción significativa en la placa y la gingivitis. Se ha conseguido el mismo efecto con dentífricos que contienen triclosán al 0,3 % y el 0,25% de copolímero de metoxietileno y ácido maleico. Las formulaciones de enjuagues bucales al 0,3% han mostrado reducciones significativas en la placa y la gingivitis. Fundamentalmente, el citrato de zinc tiene un efecto limitado sobre el crecimiento bacteriano sobre superficies que estaban limpias originalmente, pero tiene un gran efecto en áreas con cantidades moderadas de placa. Esto indica que el principal efecto del citrato de zinc es reducir la tasa de proliferación bacteriana en la placa ya formada. Por el contrario, el triclosán tiene un gran efecto sobre superficies libres de placa después del cepillado y disminuye su potencial antibacteriano al incrementar la placa existente. Esto apoya la hipótesis de que el triclosán puede adsorberse a la superficie del diente y puede prevenir la adhesión bacteriana o inhibir el crecimiento de bacterias que colonizan la superficie.

30 Las sustancias antibacterianas con poco efecto pero que interfieren con la adhesión bacteriana son agentes denominados como de 3ª generación (aminoalcoholes: octapinol, decapinol). Se ha mostrado que el uso de estos elementos como suplementos de las medidas de higiene oral reduce la formación de placa bacteriana en comparación con un enjuague bucal placebo. Sin embargo, desde el punto de vista clínico, los agentes antibacterianos de segunda generación siguen siendo la primera opción.

35 Los antibióticos no están indicados para el control de la placa bacteriana. Sus posibles efectos adversos superan su posible valor terapéutico y no son eficaces en el control de la placa supragingival y en el tratamiento de gingivitis.

#### Irrigación.

40 El uso de dispositivos de irrigación puede incrementar la capacidad de los productos para alcanzar al área subgingival, sin embargo, varios estudios han concluido que, en general, la irrigación en el margen gingival no es muy eficaz alcanzando una extensión apical suficientemente con respecto a la placa subgingival, incluso cuando la punta del irrigador se coloca 3 mm dentro de la bolsa. En la actualidad, se han diseñado aparatos de irrigación oral eléctricos y mecánicos, que tienen una predictibilidad baja para alcanzar la profundidad completa del surco gingival, tanto en lugares superficiales como profundos.

50 La eficacia de la irrigación subgingival se limita a la acción del líquido crevicular que provoca un rápido aclaramiento de la irrigación, por la presencia de componentes sanguíneos que inactivan la solución y por la presencia de cálculo subgingival que dificulta la penetración del agente.

Desde el punto de vista microbiológico, la irrigación subgingival por sí sola puede alterar temporalmente la composición bacteriana, sin embargo, dentro de las primeras ocho semanas hay una recurrencia completa de los niveles de bacterias subgingivales originales. La posible reducción de espiroquetas y bacilos móviles después de una irrigación profesional se puede atribuir a alteraciones mecánicas frecuentes, más que al efecto del agente usado en sí mismo. De forma similar, estos cambios microbiológicos no tienen efecto sobre el sangrado, el nivel de inserción, la profundidad de sondaje y no detienen la progresión de la enfermedad periodontal.

60 Los resultados clínicos (periodontitis) obtenidos con instrumentación mecánica (pulido radicular) no se superan cuando se asocian a irrigación subgingival, independientemente del agente químico utilizado. La única función es el arrastre mecánico. Con la excepción de concentraciones elevadas de clorhexidina (2%) o tetraciclina (10%) y solo cuando se aplica durante más de 5 minutos, la adición de agentes antimicrobianos en la solución de irrigación no añade ningún beneficio al obtenido cuando se utiliza solo agua o solución salina.

65 Durante la fase de mantenimiento de un paciente tratado, la irrigación diaria puede mejorar la higiene oral y la salud gingival de pacientes con un nivel bajo de control mecánico de la placa. Sin embargo, esto no significa que las irrigaciones evitan la repoblación del lugar con bacterias patógenas o que modifican los intervalos entre sesiones de

mantenimiento. Por este motivo, la irrigación del surco no puede sustituir a la instrumentación mecánica profesional durante el control del soporte periodontal.

Pastas de dientes.

5 Las principales funciones de un dentífrico (además del cepillado) son: reducir la cantidad de placa, reducir el riesgo de caries, eliminar las manchas dentales, eliminar los restos de comida y mejorar el aliento. Los beneficios buscados están influenciados directamente por la acción del agente principal y su relación con otros compuestos, tanto de la misma formulación como de otras fuentes. Las pastas de dientes contienen varios compuestos que sirven para los  
10 propósitos anteriores:

15 1. Agente abrasivo (debe limpiar y pulimentar sin dañar al esmalte, la dentina y las mucosas; debe ser insoluble, inerte, no tóxico y preferiblemente blanco; actualmente se utilizan carbonato cálcico, alúmina, sílice; el tamaño, la forma y la dureza de la partícula es importante).

2. Relleno (proporciona estabilidad y consistencia; puede ser soluble o insoluble en agua; se utilizan alginatos, carboximetilcelulosa sódica, sodio estearato y otros).

20 3. Tensoactivo (ayuda a dispersar restos de alimentos y otros; el más utilizado es el laurilsulfato sódico que también tiene propiedades antibacterianas y ayuda a la solubilización de ingredientes clave tales como aromatizantes y ciertos agentes antibacterianos).

4. Agente humectante (ayuda a reducir la pérdida de hidratación y mejora la textura del producto en la boca).

25 5. Saborizantes.

6. Agentes terapéuticos (anticaries, antiplaca, para reducir la hipersensibilidad dentinaria y agentes blanqueadores).

30 En la actualidad hay formulaciones de pastas o geles cuyo principal agente químico es el triclosán o la clorhexidina. La eficacia del gel de clorhexidina depende de la capacidad del paciente para alcanzar un control mecánico eficaz de la placa bacteriana, es decir, la capacidad del paciente para llevar el gel a los lugares adecuados de la boca. El gel de clorhexidina no penetra fácilmente en las áreas distantes del lugar de aplicación, de esta forma; cierta eficacia del gel depende de la cantidad correcta que alcance a las áreas adecuadas de la boca y de su permanencia durante un  
35 período largo.

Hay geles con una concentración de clorhexidina al 0,1% y al 1%. Teniendo en cuenta una dilución del agente por la acción de la saliva durante el cepillado, a concentración, la concentración real de clorhexidina es más baja.

40 La pasta de dientes basada en una combinación de triclosán - copolímero, de acuerdo con los estudios, muestra una reducción de aproximadamente un 20-30% en los niveles de índice gingival y placa bacteriana. La eficacia en la reducción de caries es similar a la que se alcanza con la pasta de dientes fluorada convencional.

45 Los dentífricos que contienen pirofosfatos solubles o compuestos de zinc han demostrado una reducción de entre el 10% y el 50% de los depósitos de cálculo dental. Los estudios describen que la presencia de pirofosfatos no altera la biodisponibilidad del flúor en la pasta de dientes.

Hipersensibilidad dentinaria.

50 Se han incorporado a las pastas de dientes un número significativo de agentes químicos para el tratamiento de la hipersensibilidad de la dentina. Algunos de estos, aceptados por la Asociación dental americana (ADA) son el cloruro de estroncio y el nitrato potásico. Deben utilizarse durante un período no inferior a 12 semanas para alcanzar un efecto desensibilizante significativo, acompañado de un control mecánico eficaz de la placa. Como resultado de un mejor nivel de control de la placa, la sensibilidad y las consecuencias de la acción de la placa son pequeñas.  
55

En conclusión, las medidas preventivas para mantener una salud periodontal y las acciones terapéuticas utilizadas para tratar la gingivitis y la periodontitis se basan en la eliminación y control de la placa.

60 El control más eficaz de la placa es la eliminación mecánica mediante la práctica de la técnica adecuada de cepillado y uso del hilo dental y la profilaxis profesional.

La combinación de productos químicos con eliminación mecánica en la higiene oral ofrece una ventaja, porque la mayor concentración de carga bacteriana se puede reducir mecánicamente, dejando varias placas desorganizadas y delgadas que se pueden eliminar con productos químicos.  
65

Sin embargo, cuando se intenta utilizar intraoralmente un fármaco con efectos antibacterianos, se debe considerar

su necesidad estricta y real y su indicación y algunos problemas importantes, como el desarrollo de reacciones alérgicas, efectos tóxicos y el desarrollo de bacterias resistentes. La clorhexidina, por sus propiedades y rendimiento todavía es el producto químico antiplaca más seguro y eficaz.

5 En términos de evaluación, el triclosán ha provocado gran interés en los últimos años. La irrigación subgingival como una modalidad de tratamiento, en comparación con la instrumentación mecánica, es menos efectiva y menos significativa en cuanto a parámetros clínicos asociados con la periodontitis.

10 Para que la irrigación subgingival tenga un papel importante en el tratamiento de la enfermedad periodontal, es necesario que tenga un efecto significativo y sostenido sobre la composición bacteriana, alcanzar un efecto positivo a largo plazo sobre los parámetros clínicos de la periodontitis y un efecto beneficioso más allá del efecto alcanzado con el pulido radicular solo.

15 Existen varios productos para el tratamiento de la placa bacteriana, la reducción en la formación de cálculo y la hipersensibilidad dentinaria. La elección clínica de estos compuestos debe basarse en la validez científica y su relación con las necesidades reales del paciente.

### Estatinas

20 Las estatinas son fármacos que se han utilizado ampliamente para tratar la hipercolesterolemia en pacientes con riesgo elevado de desarrollar aterosclerosis y que tienen episodios de enfermedad cardiovascular. Las estatinas son agentes reductores del colesterol potentes que inhiben la biosíntesis de colesterol en el hígado y por consiguiente, han demostrado tener efectos beneficiosos en la prevención primaria y secundaria de la cardiopatía isquémica. Estos fármacos inhiben la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG CoA reductasa) (Essig, M *et al.* 3-hydroxi-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells. *Circ. Res.* 1998; 83: 683-690), responsable de la conversión en el hígado de HMG-CoA a ácido mevalónico, precursor del colesterol, que da como resultado unos niveles reducidos de colesterol de baja densidad (LDL) y otros cambios en el perfil lipídico (Essig, M *et al.* 3-hydroxi-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells. *Circ. Res.* 1998; 83: 683-690).

30 La HMG CoA reductasa responde a una regulación de retroalimentación negativa dada por los productos esteroideos y no esteroideos del metabolismo del mevalonato, mediante la disminución de la expresión del gen de la reductasa. Las estatinas reducen el contenido de colesterol de los hepatocitos e incrementan la expresión de los receptores de LDL al inhibir la HMG CoA reductasa (Vaughan, C.J. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10). Estos receptores son responsables de la endocitosis del colesterol LDL mediada por receptores, por tanto, disminuyen el nivel plasmático de LDL circulante.

40 Los diferentes tipos de estatinas como atorvastatina, simvastatina, lovastatina, fluvastatina, pravastatina, entre otros, difieren entre sí en la absorción, unión a proteínas plasmáticas, excreción y solubilidad, exhibiendo una amplia eficacia dependiente de la dosis en la reducción de LDL.

45 Las estatinas también provocan una pequeña reducción en los niveles de triglicéridos (5-10%), junto con pequeños aumentos en los niveles de colesterol HDL (5-10%) (Vaughan, C.J. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10).

50 Por otro lado, los efectos adversos asociados con la terapia de estatinas son habitualmente leves, transitorios y reversibles. Estos incluyen: dispepsia, dolor abdominal y flatulencia. Sin embargo, los efectos adversos más importantes son transaminasas séricas elevadas y el desarrollo de miositis. El riesgo de miositis se incrementa en pacientes que reciben tratamiento de estatinas con gemfibrozil, ácido nicotínico o macrólidos y ciclosporina. La administración de fármacos que inhiben el citocromo P450, tales como antimicóticos azólicos, cimetidina y metotrexato, también incrementan la probabilidad de efectos adversos, si se consumen junto con estatinas (Vaughan, C.J. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10).

55 A las estatinas se les primero atribuyen propiedades antiinflamatorias que contrarrestan la inflamación que produce la aterosclerosis, además de sus propiedades hipolipemiantes y a continuación, con su uso, también se le atribuyen otras propiedades tales como una densidad mineral ósea incrementada y un riesgo de fracturas reducido.

60 Este proceso inflamatorio se induce mediante radicales libres, citocinas proinflamatorias y ausencia de óxido nítrico. Las estatinas aumentan los niveles de óxido nítrico biodisponible (vasodilatador endógeno) y disminuyeron las citocinas proinflamatorias (por ejemplo, el TNF- $\alpha$ , un factor de necrosis tumoral y el IL-6) hasta un 20% (Musial, J. *et al.* Anti-inflammatory effects of simvastatin in subjects with hypercholesterolemia. *Int. J. Cardiol.* 2001;77:247-253), reduciendo los efectos de la inflamación.

65 Otro marcador de inflamación y en paralelo ha demostrado ser un marcador de riesgo de enfermedad coronaria, es la proteína reactiva con C (PRC; en inglés, C-reactive protein, CRP), proteína proinflamatoria que mide los índices

de inflamación hepática. Se ha mostrado que el uso de estatinas reduce los niveles de PRC en la sangre, disminuyendo por tanto el riesgo de enfermedad cardíaca.

Los efectos observados con las estatinas son más elevados de lo esperado como un único cambio en los niveles de lípidos en sangre. Esto sugiere la existencia de efectos no lipídicos adicionales responsables de su perfil farmacológico complejo demostrado en ensayos clínicos. De acuerdo con esto, unos estudios recientes han mostrado diversos efectos de las estatinas en ámbitos biológicos no lipídicos conocidos como "efectos pleiotrópicos" de las estatinas, que incluyen los siguientes: Regresión de la arteriosclerosis (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10), reduciendo la mortalidad y morbilidad causadas por enfermedades cardiovasculares (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10), reduciendo los infartos cerebrovasculares (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10) y propiedades antiisquémicas (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10; Scalia, R. *et al.* Simvastatin exerts both anti-inflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2001; 103: 2598-2603; Llevadot, J. *et al.* Los inhibidores de la HMG CoA reductasa movilizan células progenitoras endoteliales derivadas de la médula ósea. *J. Clin. Invest.* 2001; 108: 399-405), estabilización de placas ateroscleróticas (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10), efectos antitrombóticos (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10), actividad fibrinolítica (Essig, M *et al.* 3-hydroxi-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells. *Circ. Res.* 1998; 83: 683-690), función endotelial (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10; Scalia, R. *et al.* Simvastatin exerts both anti-inflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2001; 103: 2598-2603; Ignarro, LJ *et al.*

Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987; 84: 9265-9269; Gauthier, TW *et al.* Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* 1995; 15: 1652-1659; Radomski, MW *et al.* S-Nitroso glutathione inhibits platelet activation *in vitro* and *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.* 1992;107:745-749), función plaquetaria (Gauthier, TW *et al.* Nitric oxide protects against leukocyte-endotheliuminter-actions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* 1995; 15: 1652-1659), efecto antiinflamatorio vascular (Vaughan, CJ. *et al.* The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 1-10; Scalia, R. *et al.* Simvastatin exerts both anti-inflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2001; 103: 2598-2603).

Basándose en los antecedentes descritos anteriormente, en relación con los mecanismos inflamatorios implicados en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular, existe un cierto paralelismo entre estos y los cambios inflamatorios responsables de la patogénesis de la enfermedad periodontal. En las últimas décadas ha habido un interés creciente por estudiar la relación potencial entre ambas enfermedades, sugiriendo la implicación de mecanismos comunes subyacentes que unirían la salud periodontal y la cardiovascular. Los ensayos *in vitro* e *in vivo* han sugerido el uso potencial de estatinas en la enfermedad periodontal; también, unos pocos estudios retrospectivos muestran que pacientes con periodontitis crónica avanzada tratados con estatinas mejoran su evolución. Sin embargo, ningún estudio prospectivo ha confirmado estos hallazgos, no habiéndose dilucidado todavía si las estatinas son realmente útiles en el tratamiento de la enfermedad periodontal en seres humanos.

#### Dislipidemia y enfermedad periodontal.

La enfermedad cardiovascular es la causa más común de mortalidad a nivel mundial. En un número significativo de pacientes, que puede llegar hasta el 40%, no es posible identificar algunos de los factores de riesgo tradicionales. En la búsqueda de nuevos factores de riesgo, además de la hiperlipidemia, el papel de la infección, dentro de la cual podemos relacionar la enfermedad periodontal, ha cobrado importancia (Jongsung Lim S, Luis Perez P, Eduardo Guarda S, Alejandro Fajuri N, *et al.* Enfermedad periodontal en pacientes con síndrome coronario agudo. *Rev. med. Chile*, febrero de 2005; 133: 183-189).

La periodontitis crónica se define como una enfermedad infecciosa que conduce a una pérdida lenta y progresiva de la inserción dentaria asociada a una infección bacteriana (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10): 1403-1410). A su vez, la gingivitis, una versión más leve de la misma afección, es una de las enfermedades inflamatorias localizadas más comunes en la población adulta. Si no se trata, puede conducir a una periodontitis crónica, un proceso inflamatorio continuo que da como resultado la destrucción irreversible de tejidos periodontales. Este grado moderado de inflamación podría representar una carga considerable para el sistema cardiovascular, contribuyendo a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, que han demostrado estar asociadas con la inflamación (Lindy, O. *et al.* Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral Health* 2008; 8: 16-23).

Entre las características clínicas más comunes de la periodontitis se encuentran la pérdida de inserción clínica (CAL;

- del inglés, clinical attachment loss), pérdida de hueso alveolar, bolsas periodontales e inflamación gingival, todo lo cual, sin tratamiento, puede conducir a la pérdida de dientes (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10): 1403-1410). A su vez, vez, la pérdida de dientes con diferente
- 5 compromiso infeccioso e inflamatorio del tejido periodontal, determina la activación y liberación de numerosos elementos inflamatorios al torrente sanguíneo (Jongsung Lim S, Luis Pérez P, Eduardo Guarda S, Alejandro Fajuri N, *et al.* Enfermedad periodontal en pacientes con síndrome coronario agudo. *Rev. med. Chile*, febrero de 2005; 133: 183-189).
- 10 La enfermedad periodontal más grave y aguda se presenta en aproximadamente un 8-15% de la población adulta; mientras que el 35% tiene signos de moderados a leves de la misma enfermedad en una versión crónica de progreso lento. La aterosclerosis también es una enfermedad muy común que comienza de forma temprana en la vida. Sin embargo, como la progresión de esta última suele ser lenta, los síntomas clínicos o la hospitalización son raros antes de los 40 años de edad (Buhlin, K. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease in patients with
- 15 periodontitis. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 2099-2107).
- Otros mecanismos posibles que explican la asociación descrita entre periodontitis y enfermedad cardiovascular pueden ser la liberación de bacterias, productos bacterianos o citocinas proinflamatorias desde la lesión periodontal crónica al torrente sanguíneo. Estos factores podrían conducir a una respuesta inflamatoria sistémica, representando
- 20 un perfil ideal de factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Por tanto, ambas enfermedades tienen muchos factores de riesgo en común (Buhlin, K. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 2099-2107).
- La enfermedad periodontal es una enfermedad infecciosa causada por una biopelícula (flora oral), situada en la
- 25 superficie de la lengua, encías, membranas mucosas y superficies de los dientes. Los patógenos periodontales invaden las células epiteliales y el tejido conectivo, provocando inflamación y sangrado periodontal. Esto permite la entrada de organismos invasores en el torrente sanguíneo y por lo tanto el transporte por todo el cuerpo (Karnoutsos, K. *et al.* Periodontitis as a risk factor for cardiovascular disease. *Hippokratia* 2008; 12: 144-149).
- 30 Ciertas bacterias orales se conocen como agentes causales asociados con la endocarditis infecciosa. Además, la bactericemia asociada con periodontitis se considera factor de riesgo de enfermedad coronaria e ictus. Se encontró que las muestras de placa aterosclerótica están infectadas a menudo con múltiples agentes infecciosos, tal como *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus sanguis*, que son comunes en la enfermedad periodontal. Se ha demostrado que las endotoxinas de los microorganismos de la placa bacteriana son capaces de penetrar en el tejido
- 35 gingival y entrar en el torrente sanguíneo en cantidades suficientes para provocar una respuesta sistémica de anticuerpos específicos (Karnoutsos, K. *et al.* Periodontitis as a risk factor for cardiovascular disease. *Hippokratia* 2008; 12: 144-149).
- La periodontitis conduce a la exposición sistémica de bacterias orales y la producción resultante de mediadores
- 40 inflamatorios pueden iniciar o apoyar los mecanismos asociados con el desarrollo de aterosclerosis y enfermedad coronaria (Karnoutsos, K. *et al.* Periodontitis as a risk factor for cardiovascular disease. *Hippokratia* 2008; 12: 144-149). Asimismo, entre otras complicaciones, esto provoca un deterioro de la condición diabética, incrementa las infecciones orales, genera complicaciones obstétricas y en su estado grave se asocia con la inflamación sistémica y el estado dismetabólico (Lindy, O. *et al.* Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral Health* 2008; 8: 16-23).
- 45 En la enfermedad periodontal, la pérdida de inserción clínica (CAL) se relaciona con factores de riesgo periodontales graves, entre los que la edad es muy relevante. El Instituto Nacional de Investigaciones Dentales (NIDR de EE.UU.; del inglés, National Institute of Dental Research) realizó un estudio en adultos trabajadores durante 1985 y 1986, cuyos resultados se verificaron en un estudio más reciente (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10): 1403-1410), que mostró que el porcentaje de adultos jóvenes entre 35 y 44 años con al menos un sitio con CAL (pérdida de inserción clínica) fue de un 70% y el porcentaje de adultos entre 55 y 64 años con al menos dos CAL fue de un 90%. Con prevalencia en hombres respecto a mujeres
- 50 (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10): 1403-1410).
- A su vez, en un estudio realizado en Chile en octubre de 2010 (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10): 1403-1410) se encontró que la enfermedad periodontal también se relaciona con el nivel socioeconómico de los sujetos. Aquellos con mayor educación, ingresos más elevados y mejores condiciones de vida tienen una mejor higiene oral y un estado general de salud mejor en comparación con aquellos con menos educación, ingresos más bajos y que viven en peores condiciones. Se ha confirmado que fumar y el tabaquismo son factores de riesgo para adquirir la enfermedad periodontal y otras afecciones que alteran la
- 60 salud oral (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10):
- 65

1403-1410).

La suposición de que la periodontitis es una enfermedad de la edad avanzada ya no resulta sostenible y la visión actual establece que la mayor parte de la destrucción periodontal observada en la población de edad avanzada es solo un reflejo de la acumulación de la enfermedad a lo largo de la vida, más que una afección específica de la edad. Los hombres mostraron una mayor destrucción periodontal, con más CAL en comparación con las mujeres, probablemente relacionada con una peor higiene oral, actitudes menos positivas hacia la salud oral y menos iniciativa para visitar al dentista, más que con un factor genético específico. La relación entre periodontitis y nivel socioeconómico bajo es menos directa y se debe más bien a que los pacientes con mayor educación muestran actitudes más positivas hacia la higiene oral y tienen mejor acceso a una atención dental oportuna y de calidad. La asociación entre fumar y la enfermedad periodontal es independiente de la higiene oral, edad u otros posibles factores de riesgo. Con respecto a la diabetes, no se encontró una asociación significativa (Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzua I, Aranda W, *et al.* Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J. Periodontol.* Octubre de 2010; 81(10): 1403-1410). Concluyendo lo anterior, los principales factores de riesgo para desarrollar la enfermedad periodontal son: edad avanzada, género masculino, situación socioeconómica y fumar.

### **Estatinas aplicadas a odontología.**

Como se mencionó anteriormente, las estatinas son fármacos ampliamente utilizados para reducir la hiperlipidemia, la aterosclerosis y las enfermedades asociadas a estas afecciones, que en los últimos años han llamado la atención por sus múltiples efectos beneficiosos no lipídicos conocidos como efectos pleiotrópicos.

Efectos antiinflamatorios de las estatinas en odontología.

Dentro de los efectos pleiotrópicos potentes de las estatinas, uno de los que adquiere particular importancia es el efecto antiinflamatorio. La periodontitis, como una enfermedad inflamatoria crónica, comparte algunos mecanismos con la aterosclerosis. En la periodontitis, la producción de citocinas proinflamatorias y enzimas que degradan tejidos se inicia y se mantiene por la infección bacteriana oral y su respuesta inmune asociada, dando como resultado la destrucción del tejido periodontal. Se ha encontrado que las estatinas ejercen acciones antiinflamatorias e inmunomoduladoras, así como el equilibrio de la disfunción endotelial, lo que debería afectar la evolución y la gravedad de la enfermedad periodontal (Sakoda, K. *et al.* Simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cells. *J. Dent. Res.* 2006; 85: 520-523).

En un estudio reciente se demostraron asociaciones significativas entre la gravedad de la periodontitis y los niveles bajos de HDL (Buhlin, K. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 2099-2107). También se observó una relación entre la periodontitis y el índice de masa corporal. Se observó una asociación significativa entre la PRC y la periodontitis en pacientes con niveles de PRC por encima de 2,30 mg/l y se encontró una correlación débil, pero significativa, entre las HDL y tanto con el sangrado en el sondaje como con el número de bolsas periodontales. A su vez, los niveles de IL-6 plasmática (citocina proinflamatoria) fueron más elevados en pacientes con periodontitis y el recuento de monocitos, entre otros factores de inflamación en pacientes con esta enfermedad, fue mayor que en pacientes sin periodontitis (Buhlin, K. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 2099-2107).

Esta correlación es importante porque sugiere que la enfermedad periodontal puede afectar a la concentración de lípidos en sangre y por tanto, al riesgo de enfermedad cardiovascular. El estudio mostró que un 26% de los pacientes con enfermedad periodontal tenían HDL  $\leq$  0,9 mmol/l, en comparación con un 11% de pacientes sin la enfermedad. Asimismo, el HDL tiene propiedades antiinflamatorias y puede reducir la adhesividad de las células endoteliales (Buhlin, K. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 2099-2107). Una explicación para la relación entre la periodontitis y los niveles bajos de HDL podría ser que la inflamación crónica en el periodonto conduce a la liberación de lipopolisacáridos y citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$  y TNF, que tienen la capacidad de influir en el metabolismo lipídico. La vía del mevalonato está implicada en regular la expresión de citocinas inflamatorias. Por tanto, las estatinas han mostrado tener un efecto antiinflamatorio que actúa mediante la disminución de la producción de interleucina-6 e interleucina-8, como un efecto pleiotrópico. Se demostró que la simvastatina disminuye la producción de IL-1 $\alpha$  de una manera dependiente de la dosis, lo que facilita la producción de IL-6 e IL-8, factores mediadores inflamatorios importantes (Sakoda, K. *et al.* Simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cells. *J. Dent. Res.* 2006; 85: 520-523).

El índice de carga inflamatoria periodontal (PIBI; del inglés, Periodontal Inflammatory Burden Index), que combina y unifica los datos sobre la profundidad de las bolsas periodontales, se encontró que es un 40% más bajo en pacientes en tratamiento con estatinas en comparación con pacientes que no toman este fármaco. Esta inflamación se expresa a nivel sistémico, lo que implica un aumento de la PRC, identificada como un marcador de riesgo de aterosclerosis. La proteína reactiva con C (PRC), es un factor predictivo independiente de infarto de miocardio e ictus futuros entre pacientes aparentemente sanos. La PRC, producida en el hígado en respuesta a la estimulación por citocinas inflamatorias, parece tener efectos inflamatorios en el endotelio. Se ha demostrado que la terapia con estatinas reduce los niveles de PRC, teniendo un efecto antiinflamatorio no lipídico importante (Ridker, P. *et al.* Rapid

reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia. *Circulation* 2001; 103: 1191-1193). Por consiguiente, según disminuyen las estatinas, los niveles de proteína reactiva con C, el uso de estatinas puede contribuir a la prevención y remisión de enfermedades inflamatorias, incluida la enfermedad periodontal (Horiuchi, N. *et al.* Statins and bone metabolism. *Oral Dis.* 2006; 12: 85-101).

5 Otros estudios sugieren que las estatinas pueden tener efectos antiinflamatorios importantes a diferentes niveles de la cascada inflamatoria, tales como, como en la pared del vaso (Ridker, P. *et al.* Rapid reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia. *Circulation* 2001; 103: 1191-1193).

10 Las metaloproteinasas de la matriz (MMP; del inglés, matrix metalloproteinases) y el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) pueden también desempeñar un papel importante en la inflamación. Parte del efecto protector cardiovascular de las estatinas parece provenir de su efecto antiinflamatorio, como la inhibición de MMP-9 y TNF- $\alpha$ , entre otros, que parecen participar en la destrucción tisular en la periodontitis crónica. Además, las estatinas pueden promover la diferenciación de osteoblastos provocada por la estimulación de la producción de la proteína morfogenética ósea 2 (BMP-2), que puede tener un papel importante en el hueso alveolar y en la curación y crecimiento del ligamento periodontal (Saver, B.G. Are statins associated with decreased tooth loss in chronic periodontitis? *J. Clin. Periodontol.* 2007; 34: 214-219). Se descubrió también que las estatinas incrementan el factor de crecimiento endotelial vascular, que se conoce por que estimula la formación ósea (Ayukawa, Y. *et al.* Local application of statin promotes bone repair through the suppression of osteoclasts and the enhancement of osteoblasts at bone-healing sites in rats. *Oral Surg Oral Med. Oral Pathol.* 2009; 107: 336-342).

Efecto antibacteriano de las estatinas.

25 Varios estudios han mostrado un vínculo entre el uso de estatinas y la disminución del riesgo de sepsis e inflamación (Jerwood, S. *et al.* Unexpected antimicrobial effect of statins. *J. Antimicrob. Chem.* 2008; 61: 362-364). Se encontró que el pretratamiento con atorvastatina redujo significativamente la liberación de citocinas y la adhesión de neutrófilos al endotelio venoso en pacientes sometidos a revascularización quirúrgica de arteria coronaria, derivación o injerto cardiopulmonar. Un trabajo reciente (Jerwood, S. *et al.* Unexpected antimicrobial effect of statins. *J. Antimicrob. Chem.* 2008; 61: 362-364) sugiere un riesgo un 19 % más bajo de sepsis en pacientes con aterosclerosis que toman estatinas. Los pacientes que toman estatinas en el momento en que desarrollan neumonía u otras infecciones graves tienen menos probabilidades de desarrollar sepsis, morir de sepsis o desarrollar complicaciones que requieran el ingreso a una unidad de cuidados intensivos. Se cree que estos efectos se deben a los efectos pleiotrópicos conocidos de estos fármacos, incluidos los efectos antiinflamatorios, vasodilatadores, inmunomoduladores y antioxidantes (Jerwood, S. *et al.* Unexpected antimicrobial effect of statins. *J. Antimicrob. Chem.* 2008; 61: 362-364).

Efectos promotores óseos de las estatinas en odontología.

40 Recientemente, algunos estudios (Wu, Z. *et al.* The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2008; 37: 170-176) han identificado los efectos anabólicos de las estatinas sobre la formación de hueso osteoblástico. Se encontró (Wu, Z. *et al.* The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2008; 37: 170-176) que las estatinas inducen y aceleran la formación ósea localmente y que provocan la expresión temprana de factores de crecimiento que regulan la angiogénesis, la diferenciación de células óseas y la osteogénesis. Aún más, estas propiedades de las estatinas pueden controlar algunos aspectos del envejecimiento, como la osteoporosis y la demencia (Wu, Z. *et al.* The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2008; 37: 170-176).

50 Desde hace varios años, los fármacos aminobisfosfonatos están aprobados a nivel mundial para el tratamiento de la osteoporosis. Estos agentes actúan principalmente para disminuir la resorción ósea mediante la inhibición de la enzima farnesil difosfato sintasa (una etapa en la ruta del ácido mevalónico) (Chuengsamarn, S. *et al.* Effects of statins vs. non-statin lipid-lowering therapy on bone formation and bone mineral density biomarkers in patients with hyperlipidemia. *Bone* 2010; 46: 1011-1015). Las estatinas inhiben la misma ruta, pero en una etapa previa. Las estatinas también pueden antagonizar los osteoclastos mejorando la expresión de osteoprotegerina. Específicamente, las estatinas pueden activar la función de los osteoblastos aumentando la síntesis de la proteína morfogenética 2 ósea (BMP-2). Algunos estudios (Chuengsamarn, S. *et al.* Effects of statins vs. non-statin lipid-lowering therapy on bone formation and bone mineral density biomarkers in patients with hyperlipidemia. *Bone* 2010; 46: 1011-1015) demuestran claramente que 18 meses de tratamiento con 40 a 80 mg de simvastatina por día, incrementan significativamente la formación ósea y disminuyen la resorción ósea. Incluso se ha sugerido que el uso de estatinas puede inhibir la progresión de la enfermedad periodontal en pacientes con masa ósea alveolar baja y osteoporosis (Vaziri, H. *et al.* Effect of simvastatin administration on periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. *J. Periodontol.* 2007; 78: 1561-1567). Se ha demostrado que la Simvastatina incrementa el volumen óseo trabecular, la tasa de formación de hueso y la resistencia a la compresión del hueso esponjoso. Sin embargo, el uso exitoso de simvastatina para promover la formación de hueso *in vivo* depende de la concentración local; por tanto, se han hecho continuos esfuerzos para encontrar un sistema de administración adecuado del fármaco. Diferentes dosis producen diferentes efectos y la dosis debe prescribirse con precaución considerando los

beneficios y riesgos (Vaziri, H. *et al.* Effect of simvastatin administration on periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. J. Periodontol. 2007; 78: 1561-1567).

5 De acuerdo con lo mencionado anteriormente, la presente invención describe el uso de atorvastatina para uso tópico en pacientes con enfermedad periodontal que muestran una disminución significativa en la profundidad de las bolsas periodontales y/o una reducción general de la inflamación en los tejidos gingivales en comparación con aquellos pacientes que no toman este fármaco.

#### 10 Estado de la técnica

10 El documento WO 2004/091626 se refiere a combinaciones de agentes que generan NO, estatinas (tales como atorvastatina) e inhibidores de PDE para el tratamiento de enfermedades óseas que incluyen la enfermedad periodontal; las estatinas se enseñan siendo inhibidores de HMG CoA reductasa identificadas como anabólicas para el hueso y que tienen efectos que incluyen bajar el colesterol sérico, modificar funciones celulares endoteliales, respuestas inflamatorias, activación de músculo liso, estabilidad de la placa aterosclerótica y formación de trombos.

15 Los documentos WO 01/74180 y WO 98/25460 divulgan suplementos nutricionales que comprenden estatinas para estimular el crecimiento óseo en seres humanos y otros vertebrados; las aplicaciones médicas incluyen el tratamiento de la enfermedad periodontal y defectos y otros procesos de reparación de dientes; la vía de administración es la administración oral.

20 El documento WO 99/45923 describe un método para inhibir la resorción ósea anormal que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de HMG CoA reductasa, tal como atorvastatina, simvastatina, lovastatina y otros; en particular, la atorvastatina se enseña como un inhibidor de HMG CoA reductasa en el contexto de osteoporosis, enfermedad de Paget, pérdida ósea periprotésica u osteolisis, hipercalcemia maligna, osteogénesis imperfecta, artrosis, pérdida ósea alveolar asociado con la enfermedad periodontal y resorción ósea anormal.

25 El documento US 2008/280980 divulga una terapia para la enfermedad periodontal, en donde el agente activo es "resolvina"; la terapia opcionalmente incluye un agente promotor del crecimiento óseo adicional tal como un factor de crecimiento, una proteína morfogénica ósea o una estatina tal como atorvastatina.

30 El documento US 2012/101061 enseña que las estatinas pueden administrarse conjuntamente con compuestos de "resolvina"; las estatinas se enseñan para disminuir la proporción LDL/HDL de suero y pueden tener actividad antiinflamatoria.

35 El documento US20050245439A1 describe un método para tratar, prevenir o reducir el riesgo de destrucción articular en un sujeto que sufre una enfermedad articular o musculoesquelética. El método comprende administrar un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) o en conjunción con otros agentes, por ejemplo, estatinas, para inhibir la degradación y resorción del cartílago y hueso en la articulación. El producto administrado en este método se puede formular como una crema, un gel, una pomada, una pasta, un colutorio, un polvo, un comprimido, una píldora, un gránulo, una cápsula, una loción, una suspensión, una formulación de liposomas, una nasosfera, un parche, un supositorio, un enema, una infusión por goteo o una solución inyectable.

40 El documento WO2008005509A2, describe composiciones, métodos y kits para alterar las propiedades de una superficie biológica utilizando partículas tales como, por ejemplo, partículas basadas en calcio junto con un agente que se une a la superficie biológica. La partícula comprende adicionalmente un agente, factor o fármaco, por ejemplo, estatinas. Las propiedades como el color, brillo, textura, fuerza y olor de las superficies biológicas tales como los dientes y los huesos son alterables. La composición comprende un dentífrico que incluye un enjuague bucal, un colutorio bucal, una pasta de dientes, un polvo de dientes, un endurecedor de dientes, una composición antiplaca, una crema dental, un hilo dental, un líquido, un gel, una goma de mascar, incluyendo un chicle relleno en el centro, una golosina, incluyendo mentas, pastillas para chupar.

45 El documento WO2007061783A1, proporciona nuevos métodos para inducir o promover el crecimiento óseo y/o para reducir o prevenir el deterioro óseo en un sujeto mamífero. Los métodos inventivos generalmente comprenden administrar al sujeto una cantidad eficaz de una resolvina y opcionalmente, otros compuestos, por ejemplo, estatinas. En particular, los métodos inventivos pueden ser útiles para tratar o prevenir afecciones asociadas con la degradación, deterioro o degeneración óseos, tales como la enfermedad periodontal, osteoartritis y enfermedad ósea metastásica y enfermedad ósea osteolítica. Las composiciones de este documento se formulan como una preparación seleccionada del grupo que consiste en una solución, suspensión, dispersión, pomada, crema, gel, pasta de dientes, polvo de dientes, pastilla para chupar, bálsamo, goma de mascar, aerosol, pulverizador bucal, pastilla, sobrecito, enjuague bucal, palillo de dientes, comprimido, cápsula e hilo dental.

50 El documento US20030186933A1 divulga composiciones para usos farmacéuticos y otros que comprenden soluciones acuosas claras de ácidos biliares que no forman ningún precipitado detectable en intervalos seleccionados de valores de pH de la solución acuosa y los métodos para preparar tales soluciones. Las composiciones de la invención comprenden agua; un ácido biliar en forma de un ácido biliar, sal de ácido biliar o un

ácido biliar conjugado con una amina mediante un enlace amida; y uno o ambos de un producto de conversión de almidón soluble acuoso y un polisacárido no de almidón soluble acuoso. La composición permanece en solución sin formar un precipitado en un intervalo de valores de pH y de acuerdo con una realización, permanece en solución para todos los valores de pH obtenibles en un sistema acuoso. La composición, de acuerdo con algunas realizaciones, puede contener además un compuesto farmacéutico en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Entre los ejemplos no limitativos de compuestos farmacéuticos se incluyen insulina, heparina, compuestos de bismuto, amantadina y rimantadina.

Los documentos anteriormente mencionados no divulgan composiciones principalmente basadas en estatinas como compuesto activo para prevenir y tratar la enfermedad periodontal, para complementar el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal y para la regeneración ósea. Todas las composiciones de estos documentos comprenden otros ingredientes activos que proporcionan la acción biológica y las estatinas son solo compuestos opcionales y secundarios.

### 15 Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Evaluación de la toxicidad celular de un prototipo de pasta de dientes con fluoruro medicado con Atorvastatina al 2%. (Ejemplo 4).

Figura 2: Evaluación de la proliferación de linfocitos T de un prototipo de pasta de dientes con fluoruro medicado con Atorvastatina al 2%. (Ejemplo 4).

### Sumario de la invención

La presente invención divulga la atorvastatina para usar en la prevención o tratamiento de la enfermedad periodontal, en donde la atorvastatina se formula para una administración tópica. Las composiciones tópicas para la prevención primaria o el tratamiento de la enfermedad periodontal, se pueden formular, como pasta de dientes, enjuague bucal, comprimidos para disolver en la boca, elementos o dispositivos para la liberación lenta intraoral de estatinas e hilo dental.

Las composiciones tópicas se pueden formular como un gel para aplicar en bandejas dentales y gel concentrado para irrigación de bolsas periodontales.

### Descripción detallada de la invención

La presente invención divulga la atorvastatina para usar en la prevención o tratamiento de la enfermedad periodontal, en donde la atorvastatina se formula para una administración tópica.

En una realización, las composiciones tópicas de la presente invención comprenden atorvastatina o sales farmacéuticamente aceptables de la misma. Las composiciones tópicas de la presente invención pueden comprender también uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, vehículos, aditivos, excipientes, disolventes, adyuvantes, colorantes, aromatizantes, edulcorantes, aglutinantes, emolientes, agentes de relleno, lubricantes, conservantes, diluyentes, espesantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, disgregantes, deslizantes, hidratantes, humectantes, agentes abrasivos, tensioactivos, agentes anticaries, agentes antiplaca, agentes para reducir la hipersensibilidad y agentes blanqueadores) o combinaciones de los mismos.

En una realización preferida, las composiciones tópicas de la presente invención se utilizan para la prevención primaria o para el tratamiento de la enfermedad periodontal humana o animal. En una realización, las composiciones tópicas de la presente invención para la prevención primaria del tratamiento de la enfermedad periodontal se formulan como pasta de dientes, enjuague bucal, comprimidos para disolver en la boca, elementos o dispositivos para la liberación lenta intraoral de estatinas e hilo dental con al menos una estatina como principal agente activo. En otra realización, cuando las composiciones tópicas de la presente invención se utilizan para la prevención primaria o para el tratamiento de la enfermedad periodontal animal, las composiciones tópicas también se pueden incorporar a carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, tales como galletas y bolitas. En una realización preferida, los animales son perros y gatos.

En otro aspecto de la divulgación las composiciones tópicas se utilizan como complemento para el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal humana o animal. Tales composiciones tópicas utilizadas como complemento para el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal se formulan, por ejemplo, como gel concentrado para aplicarse en bandejas dentales y como gel concentrado para irrigación de bolsas periodontales con al menos una estatina como el principal agente activo. Cuando las composiciones tópicas se utilizan como complemento para el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal animal, las composiciones tópicas se pueden incorporar también, por ejemplo, a la carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, tales como, galletas y bolitas. Preferentemente, los animales son perros y gatos.

En otro aspecto de la divulgación las composiciones tópicas se utilizan en la regeneración ósea humana o animal,

por ejemplo, como una composición concentrada con al menos una estatina como agente activo principal, formulada como un líquido (por ejemplo en blísteres), como polvo, como polvo o líquido para preparar una solución y como gel. Todas estas formulaciones están previstas para aplicación directa en defectos óseos o para aplicación a través de un vehículo con materiales de injerto, membranas e implantes dentales intraóseos. En una realización, las composiciones se usan para defectos óseos dentales, por ejemplo, de traumatismos, lesiones tumorales, quistes, malformaciones.

También es un objetivo de la presente invención proporcionar medios para la prevención primaria o el tratamiento de la enfermedad periodontal humana o animal. Los medios para la prevención primaria o para el tratamiento de la enfermedad periodontal humana o animal comprenden administrar una composición tópica seleccionada de, pasta de dientes, enjuague bucal, comprimidos para disolver en la boca, elementos o dispositivos para la liberación lenta intraoral de estatinas e hilo dental con atorvastatina como agente activo a un sujeto que lo necesita. En otra realización, cuando los medios para la prevención primaria o para el tratamiento es para la enfermedad periodontal animal, a continuación los medios pueden comprender también la administración de una composición tópica incorporada, a la carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, tales como, galletas y bolitas. En una realización preferida, los animales son perros y gatos.

En el presente documento también se proporcionan métodos para complementar el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal humana o animal. El método para complementar el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal humana o animal comprende la administración de una composición tópica seleccionada de gel concentrado para ser aplicado en bandejas dentales y como gel concentrado para irrigación de bolsas periodontales con al menos una estatina como principal agente activo a un sujeto que lo necesite. En otro aspecto, cuando el método para complementar el tratamiento estándar es para la enfermedad periodontal animal, a continuación el método puede comprender también la administración de una composición tópica incorporada a carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, tales como, por ejemplo, pero sin limitarse a, galletas y bolitas. En un aspecto preferido, los animales son perros y gatos.

Las composiciones divulgadas en el presente documento son para usar en métodos para regeneración ósea humana o animal que también se divulga en el presente documento. El método para la regeneración ósea humana o animal comprende administrar una composición tópica seleccionada de, pero sin limitarse a un líquido (por ejemplo, en blísteres), como polvo, como polvo o líquido para preparar una solución y como gel con al menos una estatina como principal agente activo a un sujeto que lo necesite. En otro aspecto, cuando el método es para la regeneración ósea animal, a continuación el método también puede comprender administrar una composición tópica incorporada, por ejemplo a carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, tales como, por ejemplo, galletas y bolitas. En un aspecto preferido, los animales son perros y gatos.

#### 40 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden atorvastatina para usar en la prevención del tratamiento de la enfermedad periodontal que son aplicables en odontología y medicina.

#### 45 **Ejemplos**

Los siguientes ejemplos ilustran la invención reivindicada.

##### 50 **Ejemplo 1: Formulación de pasta de dientes con atorvastatina al 2%.**

Para 10 ml:	
Atorvastatina cálcica	200 mg
Mentol	5 mg
fluoruro sódico	5 mg
Gel de Lutrol	250 mg
Gel base (cantidad suficiente para)	10 ml

Se disolvió atorvastatina cálcica en etanol. Se añadieron mentol y fluoruro sódico. La mezcla completa se disolvió en gel de lutrol y se añadió una cantidad suficiente de gel base para 10 ml de formulación.

##### 55 **Ejemplo 2: Evaluación de la asociación de la terapia farmacológica sistémica de estatinas en el estado periodontal de una población adulta.**

Se realizó un estudio de cohortes concomitante, con dos grupos de pacientes, algunos expuestos al tratamiento con estatinas y algunos no expuestos al tratamiento con estatinas. El paciente sometido a terapia con estatinas recibió

Atorvastatina 20 mg, cada 24 horas, indicada como parte de una terapia cardiológica preventiva.

Los pacientes elegibles fueron aquellos que cumplen los siguientes criterios de inclusión: a) consentimiento informado, b) mayores de 35 años, c) con al menos 14 dientes naturales en la boca (excluyendo los terceros molares), d) tener algún grado de enfermedad periodontal. Los pacientes excluidos fueron aquellos que: a) tenían planes de migración, b) tenían presencia de enfermedad limitante para la comprensión del estudio y su ejecución o por estar hospitalizados, c) recibieron tratamiento periodontal en el último año d) recibieron tratamiento de fármacos antibióticos antiinflamatorios no esteroideos en los últimos 2 meses, e) utilizaron bloqueadores de los canales de calcio, fenitoína, ciclosporina o cualquier fármaco asociado que pudiera afectar el tejido de las encías, f) tenían una patología autoinmunitaria.

Se tomaron medidas cuando comenzó el estudio y a los 6 meses para ambos grupos de pacientes. El examen incluyó la profundidad de sondaje (PD; del inglés, probing depth), el nivel de inserción clínica (CAL) y el índice de sangrado en el sondaje (BOP; del inglés, bleeding on probing index).

La PD se definió como la distancia desde el margen gingival libre hasta el fondo de la bolsa. Se realizó un sondaje periodontal a cada diente en 6 lugares (mesiovestibular, mediovestibular, distovestibular, mesiolingual/palatino, mediolingual/palatino y distolingual/palatino). El CAL se definió como la distancia desde la unión cemento-esmalte hasta el fondo de la bolsa. Se realizó un sondaje periodontal a cada diente en 6 lugares (mesiovestibular, mediovestibular, distovestibular, mesiolingual/palatino, mediolingual/palatino y distolingual/palatino). El IB se determinó asignando un signo "+" a la presencia de sangrado en el sondaje en vestibular y/o palatino del diente examinado y un signo "-" a la ausencia de sangrado. Posteriormente, se agregaron los signos "+" y se dividieron por el total de lugares examinados.

El área de superficie inflamada periodontal (PISA; del inglés, Periodontal Inflamed Surface Area) se calculó también utilizando datos de pérdida de inserción, recesión gingival y sangrado en el sondaje. El diagnóstico periodontal respectivo se definió mediante el examen de todos los dientes presentes en la boca, excluidos los terceros molares.

La clasificación de los pacientes se realizó de acuerdo con los criterios clínicos propuestos por Page y Eke (Page, R; Eke, P; 2007. Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis, Journal of Periodontology July 2007, Vol. 78, No. 7s: 1387-1399) para estudios de estas características:

0: Sin presencia de periodontitis moderada y grave.

1: Periodontitis moderada: CAL mayor o igual a 4 mm en dos o más lugares interproximales (no en el mismo diente) o al menos dos lugares interproximales con PD mayor o igual a 5 mm.

2: Periodontitis grave: dos o más lugares interproximales con CAL mayor o igual a 6 mm y al menos uno de ellos con PD mayor o igual a 5 mm.

En el grupo de estudio solo se consideraron sujetos con algún nivel de enfermedad periodontal, de ambas categorías de enfermedad 1 y 2. Para observar la progresión, estabilidad o mejoría de la condición periodontal, tras el período de observación de 6 meses, se observaron los cambios que ocurren en la clasificación de los individuos, entre las categorías 0, 1 y 2.

#### Mediciones a nivel de líquido crevicular gingival (GCF).

Tras la confirmación del diagnóstico periodontal, se tomaron muestras de GCF (del inglés, Gingival Crevicular Fluid level) mediante procedimientos estándar. Estos se describen a continuación:

Se seleccionaron dos lugares de cada cuadrante cuyo PD es más grande. Después de aislar el diente con bolas de algodón, se eliminó la placa supragingival con una cureta sin tocar el margen gingival. El sitio crevicular se secó con cuidado con aire. El GCF se recogió con conos de papel. Las puntas de papel se insertaron en el surco/bolsa hasta sentir una resistencia media y se dejaron durante 40 segundos. Se excluyeron los conos contaminados con saliva o sangre. Posteriormente, los conos de papel se colocaron en un tubo. Las muestras de GCF se almacenaron a -80 ° C.

Se midieron IL-6, IL-10 y proteína reactiva con C (PRC) como biomarcadores de inflamación. Las mediciones se realizaron a través de la prueba Elisa. Las mediciones se realizaron al inicio del estudio y a los 6 meses para ambos grupos de pacientes, con y sin indicación de estatinas.

#### Resultados.

Se observó que el grupo con indicación de estatinas mejoró sustancialmente sus parámetros periodontales, tanto clínicos como moleculares.

A nivel clínico se observó que los pacientes que toman estatinas redujeron el índice de sangrado en el sondaje

(BOP) (considerado como el principal parámetro de la actividad periodontal) en un 60,89%. También redujeron el área de inflamación periodontal medida por el índice PISA en un 58,66%. A nivel molecular, los niveles de IL-6 en GCF (líquido crevicular gingival) cayeron desde un promedio de 4,8 pg/ml en pacientes sin utilización de estatinas, a un promedio de 0,47 pg/ml en pacientes que consumen estatinas. Esto representa una reducción de un 90,1%. En cuanto a los niveles de IL-10 en GCF, el promedio en pacientes que no consumen estatinas fue de 1,23 pg/ml, mientras que no se pudo detectar IL-10 en pacientes que toman estatinas. Los niveles de PRC (proteína reactiva con C) en GCF se redujeron en un 93% en pacientes que toman estatinas sistémicas.

De lo anterior cabe concluir que el uso sistémico de estatinas contribuye a la prevención de enfermedades periodontales, dado que reduce la inflamación clínica de los tejidos periodontales y también contribuye incluso sin tratamiento local. Esto justifica el desarrollo de un producto tópico de aplicación directa en la boca, para el complemento del tratamiento periodontal, para el posterior mantenimiento de la salud periodontal y también para la prevención de esta enfermedad en pacientes con susceptibilidad elevada (fumadores, diabéticos, inmunodeprimidos, etc.). Todo lo anterior para contribuir al control de la enfermedad periodontal mediante la modulación de la respuesta inmunitaria.

### Ejemplo 3: Ensayo clínico.

El objetivo principal de este ensayo clínico fue evaluar la efectividad del cepillado de dientes con una pasta de dientes medicada con atorvastatina al 2% (Formulación del Ejemplo 1) (2 mg por 0,1 ml) en la mejora de los niveles clínicos y moleculares en pacientes adultos después del tratamiento no quirúrgico de periodontitis, en comparación con un placebo. Otros objetivos de este ensayo clínico fueron evaluar parámetros clínicos periodontales específicos tales como la profundidad de sondaje (PD), nivel de inserción clínica (CAL), índice de sangrado en el sondaje (BOP) y el área de superficie inflamada periodontal (PISA) en una población adulta que padece enfermedad crónica PD, antes y después (1 mes después) de la terapia periodontal no quirúrgica, complementada con instrucciones de higiene oral que indican pasta de dientes medicada con atorvastatina al 2% (formulación del Ejemplo 1) en comparación con placebo; y evaluar los marcadores bioquímicos del paciente en el GCF: IL-6, IL-10, PRC, en el momento basal y después de 1 mes.

### Materiales y métodos.

Se preparó una pasta de dientes de atorvastatina al 2% para cepillado de acuerdo con el Ejemplo 1. Los prototipos y placebos medicados se dosificaron en jeringuillas de 5 ml indicando medidas cada 0,5 ml para facilitar la dispensación del producto y asegurar un uso adecuado. Por tanto, cada jeringuilla fue para 10 dosis de pasta de dientes (10 cepillados). Se proporcionaron 6 jeringuillas a cada paciente, para que tuvieran suficientes para un mes de tratamiento, durante el que tenían que cepillarse 2 veces al día.

### Tamaño muestral.

Se realizó un ensayo clínico con dos grupos paralelos (1:1), en donde hubo 2 grupos de 19 pacientes cada uno. El tamaño muestral estimado se basó en la diferencia en el nivel de integración alcanzado en el estudio de Goodson *et al.* (Goodson JM, Haffajee AD, Socransky SS, Kent R, Teles R, Hasturk H, Bogren A, Van Dyke T, Wennstrom J, Lindhe J. Control of periodontal infections: A randomized controlled trial I. The primary outcome attachment gain and pocket depth reduction at Treated sites. *J Clin Periodontol* 2012, 39: 526-536), con una potencia del 90 %, un nivel de significación del 0,05, dos colas.

### Tratamientos y protocolos.

Los pacientes del estudio se trataron en el Departamento de Periodoncia del CESA, University of los Andes en San Bernardo.

Los dos grupos se sometieron a una terapia periodontal no quirúrgica que consistió en raspado y pulido radicular de todos los grupos dentales.

La terapia se complementó con instrucciones de higiene oral, indicando a los pacientes cepillarse con la pasta de dientes proporcionada, 2 veces al día durante dos minutos cada vez. A continuación, se les dijo que escupieran el exceso de pasta de dientes durante 30 segundos, pero no enjuagarse los dientes, o consumir líquidos o alimentos sólidos durante al menos 30 minutos. Un grupo de 19 pacientes recibió la pasta de dientes de atorvastatina al 2%, mientras que el otro grupo de 19 pacientes recibió pasta de dientes sin el fármaco para actuar como placebo.

### Criterios de inclusión.

Los pacientes incluidos en el estudio fueron aquellos que accedieron plenamente a participar mediante la firma de un consentimiento informado, que se ha sometió y aprobado, junto con el protocolo de estudio del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de los Andes. La identidad de los pacientes se mantuvo confidencial y anónima. La población diana consiste en 38 pacientes adultos que consultan al Servicio de Periodoncia de la

University of Los Andes. Los pacientes elegibles fueron aquellos que cumplen los siguientes criterios: a) dieron consentimiento informado, b) tenían más de 35 años de edad, c) tenían al menos 14 dientes naturales en la boca (excluyendo los terceros molares) y d) tenían algún grado de enfermedad periodontal. Se excluyeron aquellos quienes: a) asociados a planes migratorios, b) tenían presencia de enfermedad limitante para la comprensión y ejecución del estudio o estuvieran hospitalizados, c) recibieron tratamiento periodontal en el último año, d) completaron una terapia antibiótica o de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE; en inglés, NSAID) en las últimas dos semanas, e) o estaban utilizando bloqueadores de los canales de calcio, fenitoína, ciclosporina o cualquier fármaco asociado que pueda afectar el tejido de las encías, f) tenían patología autoinmune, g) requirieron profilaxis antibiótica para el tratamiento periodontal, h) requirieron tratamiento con AINE para el control del dolor postoperatorio después del procedimiento realizado, i) tenían terapia de estatinas para la dislipidemia y j) pacientes embarazadas. El reclutamiento se realizó a través de un cribado consecutivo de sujetos que acuden al servicio anteriormente mencionado para un tratamiento periodontal.

#### Mediciones de enfermedad periodontal.

Los sujetos inscritos fueron examinados en el CESA (clínicas dentales) de la University of los Andes, por el mismo examinador calibrado utilizando instrumentos de prueba básicos y una sonda periodontal. El examen incluye profundidad de sondaje (PD), nivel de inserción clínica (CAL) e índice de sangrado en el sondaje (BI). La PD se definió como la distancia desde el margen gingival libre hasta el fondo de la bolsa. Para cada diente se realizó un sondaje periodontal en 6 lugares (mesiobucal, mediovestibular, distobucal, mesiolingual/palatino, mediolingual/distolingual, palatino/lingual). El nivel de inserción clínica (CAL) se definió como la distancia desde la unión cemento-esmalte hasta el fondo de la bolsa. Para cada diente se realizó un sondaje periodontal en 6 lugares (mesiobucal, mediovestibular, distobucal, mesiolingual/palatino, mediolingual/distolingual, palatino/lingual). El índice de sangrado en el sondaje (BOP) se determinó asignando + a la presencia de sangrado en el sondaje vestibular/palatino del diente examinado y con un signo - la ausencia. Posteriormente, los signos + se sumaron y dividieron por el número de lugares examinados.

Además, el PISA (área de superficie inflamada periodontal) también se calculó a través de una hoja de cálculo de Excel, utilizando datos de pérdida de inserción, recesión gingival y sangrado en el sondaje. El diagnóstico periodontal respectivo se definió a través del examen de todos los dientes presentes en la boca, excluidos los terceros molares.

#### Mediciones al nivel del líquido crevicular gingival (GCF).

Una vez se confirmó el diagnóstico periodontal, se procedió a la toma de muestras del GCF. Esto se describe a continuación:

Se seleccionaron dos lugares en cada cuadrante cuyo PD es más grande. Tras aislar el diente de forma relativa con hisopos de algodón, se procedió a la remoción de la placa supragingival con cureta sin tocar el margen gingival. El sitio crevicular se secó con cuidado con aire de jeringuilla triple. El GCF se recogió con conos de papel. Las puntas de papel se insertaron en la bolsa hasta sentir una resistencia media y se dejaron durante 40 segundos. Se excluyeron los conos contaminados con saliva o sangre. Posteriormente, los conos de papel se pusieron dentro de un tubo Eppendorf. Las muestras de GCF se almacenaron en frío a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Todas las muestras fueron enviadas para su análisis al Laboratorio de Investigación de la University of los Andes (CIBRO). Estas muestras fueron enviadas bajo un protocolo preestablecido estrictamente.

Se midieron los siguientes biomarcadores de inflamación: IL-6, IL-10, proteína reactiva con C (PRC) de Systems™ tanto de R como de D. Los biomarcadores se midieron mediante la prueba Elisa. De manera similar a la evaluación clínica, se midieron en el momento basal (ambos grupos: con y sin estatinas) y después de un mes (en ambos grupos: con y sin estatinas).

#### Control del sesgo

Las muestras de GCF de pacientes se marcaron con números por otra persona, por lo que no hay influencia sobre el investigador al evaluar los marcadores.

El registro de la aplicación de estatinas se realizó por un profesor de la Facultad de Odontología, antes de la evaluación clínica periodontal, con el fin de no influir al investigador.

La asignación a cada grupo fue aleatoria y hubo un ocultamiento de la secuencia.

#### Plan de análisis:

Las variables continuas se describieron con medidas de tendencia central, dispersión y posición y las variables dicotómicas se tabularon y se describieron con frecuencias absolutas y relativas de acuerdo con el grupo. Para comparar las variables continuas entre grupos se utilizó un ANOVA o una prueba de Kruskal Wallis, con un análisis

posterior de comparaciones múltiples. El efecto de los tratamientos se exploró mediante un modelo de regresión lineal de niveles múltiples para evaluar el rendimiento, considerando la no independencia de las medidas en cada lugar.

## 5 Resultados.

Tras el tratamiento convencional de la enfermedad periodontal, todos los índices mostraron una clara reducción. En el grupo de estudio que utilizó pasta de dientes de atorvastatina, esta reducción se produjo en porcentajes más elevados.

10 Los pacientes que utilizaron pasta de dientes con atorvastatina al 2% durante un mes (grupo de estudio) tras una terapia periodontal convencional mejoraron sus parámetros periodontales en mayor medida respecto al grupo de control, que utilizó pasta de dientes no medicada.

15 La tasa de sangrado en el sondaje se redujo en un 12% más que en el grupo de estudio, mientras que el área de inflamación (PISA) disminuyó un 9,5% más que en el grupo de control.

20 A nivel molecular, se encontró que en el GCF (líquido crevicular gingival), los niveles de IL-6, IL-10 y PRC tuvieron reducciones de un 8%, un 5% y un 11% respectivamente, mayores en el grupo de estudio (que utilizó 2% pasta de dientes de atorvastatina) en comparación con el grupo de control (que usó una pasta de dientes no medicada).

25 Si analizamos los datos para los grupos de pacientes de alto riesgo, como el grupo de fumadores y diabéticos, las reducciones en todos los niveles son más pronunciadas. En el grupo de fumadores, la tasa de sangrado en el sondaje se redujo en un 26% más que en el grupo de estudio. Mientras el área de inflamación (PISA) se redujo en un 22% más que en el grupo de control. En el grupo de diabéticos la tasa de sangrado en el sondaje se redujo en un 18% más en el grupo de estudio, mientras que el área de inflamación (PISA) se redujo en un 12% más que en el grupo de control.

30 A nivel molecular, en grupos de alto riesgo, se encontró que en el GCF (líquido crevicular gingival) los niveles de IL-6, IL-10 y PRC tuvieron reducciones de un 10 %, un 7% y un 15% respectivamente mayores en el grupo de estudio que en el grupo de control.

35 De lo anterior cabe concluir que el uso de una pasta de dientes medicada con un 2 % de Atorvastatina ayuda a mejorar el resultado del tratamiento convencional de la enfermedad periodontal. Este efecto fue mayor en pacientes predispuestos a la enfermedad por disfunción inmunitaria, tales como fumadores y pacientes diabéticos.

### **Ejemplo 4: Evaluación de la actividad inmunomoduladora de una pasta de dientes con Atorvastatina al 2%.**

40 El objetivo de este ensayo fue evaluar la actividad inmunomoduladora de un prototipo de pasta de dientes fluorado medicado con Atorvastatina al 2% sobre la proliferación de linfocitos T.

Los objetivos específicos de este ensayo fueron evaluar el grado de toxicidad celular (viabilidad celular medida en % de linfocitos T muertos) y el nivel de proliferación de linfocitos T bajo un estímulo específico en presencia de:

45 a. Control: Células mononucleares de sangre periférica (PBMC) + Fitohemaglutinina (PHA) sin atorvastatina

50 b. Soluble ATi: PBMC + PHA + Atorvastatina irradiada soluble (esterilizada con rayos gamma). Se utilizó una solución de reserva de Atorvastatina 5 mg/ml. Las diluciones se realizaron en medio RPMI completo con FBS al 10%.

c. TP ATi: PBMC + PHA + pasta de dientes irradiada con Atorvastatina (esterilizada con rayos gamma). Se utilizó pasta de dientes que contiene Atorvastatina al 2% (20 mg/ml). Las diluciones se realizaron en medio RPMI completo con FBS al 10%.

55 d. Irr TP: irradiado no medicado con pasta de dientes Atorvastatina (esterilizada con rayos gamma). Las diluciones se realizaron en medio RPMI completo con FBS al 10%.

60 e. ATNI TP: ATNI TP: PBMC + PHA + pasta de dientes de Atorvastatina no irradiada (no esterilizada). Se utilizó pasta de dientes que contiene Atorvastatina al 2% (20 mg/ml). Las diluciones se realizaron en medio RPMI completo con FBS al 10%.

f. No irr TP: Pasta de dientes no irradiada (ni esterilizada). Las diluciones se realizaron en medio RPMI completo con FBS al 10%.

## 65 Materiales y métodos

**Evaluación de toxicidad celular.**

5 Se estimularon PBMC humanas derivadas de donantes sanos de control con PHA, 25 µg/ml durante 48 horas de CO<sub>2</sub> al 5%, en presencia o ausencia de Atorvastatina (AT) en diversas formulaciones: Atorvastatina irradiada (ATI) o no irradiada (Atni), soluble o pasta de dientes. La estimulación se realizó en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10%, L-glutamina 2 mM, penicilina 100 U/ml, estreptomina 100 µg/ml. Las células se tiñeron con yoduro de propidio a una concentración de 1 µg/ml, a continuación, las muestras se analizaron en un citómetro de flujo Beckman Coulter XL.

**10 Evaluación de la proliferación de linfocitos T.**

15 Se estimularon PBMC humanas derivadas de donantes sanos de control con PHA, 25 µg/ml, en presencia o ausencia de Atorvastatina (AT) en diversas formulaciones: Atorvastatina irradiada (ATI) o no irradiada (Atni), soluble o pasta de dientes. La estimulación se realizó en medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10%, L-glutamina 2 mM, penicilina 100 U/ml, estreptomina 100 µg/ml. El día 0, las PBMC se tiñeron con la sonda CellTrace™ Violet como describe por el fabricante y a continuación se cultivaron durante 4 días en CO<sub>2</sub> al 5%. Posteriormente, las células se recolectaron y se tiñeron con anticuerpo anti-CD4 conjugado con FITC y las muestras se analizaron mediante un citómetro de flujo Beckman Coulter XL. Sumario del p valor: \*\*0,0011, análisis de varianza de una vía.

**20 Resultados.**

Las Figuras 1 y 2 muestran los resultados de la evaluación de la toxicidad celular y la evaluación de la proliferación de linfocitos T.

- 25
- No se utilizaron concentraciones de 500 µM en los ensayos de proliferación debido al elevado porcentaje de muerte celular, como se muestra en el ensayo de viabilidad.
- 30
- Ninguna de las formulaciones utilizadas mostró una toxicidad celular incrementada; los niveles de viabilidad celular fueron comparables con los del grupo de control.
  - Se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales. Los productos que contienen Atorvastatina (Soluble Ati, Ati TP y Atni TP) tuvieron un comportamiento inmunomodulador claro, ya que al aplicarse, reducen la proliferación de células inmunitarias.
- 35
- La formulación de pasta dentífrica medicada con Atorvastatina al 2% (esterilizada y no esterilizada) tuvo un nivel de actividad inmunomoduladora comparable con una solución de Atorvastatina (5 mg/ml), por lo que se concluye que su actividad farmacológica sobre las células permaneció inalterada, descartando interacciones con otros componentes.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Atorvastatina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para usar en la prevención o tratamiento de la enfermedad periodontal humana o animal, en donde la atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma se formula para administración tópica.
- 10 2. La atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma para usar según la reivindicación 1, en donde la formulación para administración tópica comprende también uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, vehículos, aditivos, excipientes, disolventes, adyuvantes, colorantes, aromatizantes, edulcorantes, aglutinantes, emolientes, agentes de relleno, lubricantes, conservantes, diluyentes, espesantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, disgregantes, deslizantes, agente humectante, humectantes, agentes abrasivos, tensioactivos, agentes anticaries, agentes antiplaca, agentes para reducir la hipersensibilidad y agentes blanqueadores o combinaciones de los mismos.
- 15 3. La atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma para usar según la reivindicación 1 o 2, en donde la atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma se formula como pasta de dientes, enjuague bucal, comprimidos para disolver en la boca, elementos o dispositivos para liberación lenta intraoral e hilo dental.
- 20 4. La atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende atorvastatina al 2 %.
- 25 5. La atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma para usar según la reivindicación 4, en donde la atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma se formula como una pasta de dientes.
- 30 6. La atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma para usar según la reivindicación 1, en donde la formulación para la administración tópica comprende la incorporación de la atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable a carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, como galletas y bolitas y en donde el uso es para tratar animales.
- 35 7. Uso no terapéutico tópico de atorvastatina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para tratar defectos óseos dentales.
- 40 8. El uso no terapéutico tópico según la reivindicación 7, en donde la atorvastatina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se formula como una composición concentrada, como líquido, como polvo, como polvo o líquido para preparar una solución, como gel, prevista para la aplicación directa en defectos óseos o para la aplicación a través de un vehículo con materiales de injerto, membranas e implantes dentales intraóseos.
- 45 9. El uso no terapéutico tópico según la reivindicación 8, en donde la atorvastatina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se formula en carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, como galletas y bolitas y en donde el uso es para tratar animales.
- 50 10. El uso no terapéutico tópico según la una cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en donde la atorvastatina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma es atorvastatina al 2 %.
- 55 11. Una composición tópica para usar en la prevención o tratamiento de la enfermedad periodontal humana o animal, en donde la composición consiste en atorvastatina al 2 % o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, vehículos, aditivos, excipientes, disolventes, adyuvantes, colorantes, aromatizantes, edulcorantes, aglutinantes, emolientes, agentes de relleno, lubricantes, conservantes, diluyentes, espesantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, disgregantes, deslizantes, agente humectante, humectantes, agentes abrasivos, tensioactivos, agentes anticaries, agentes antiplaca, agentes para reducir la hipersensibilidad y agentes blanqueadores o combinaciones de los mismos.
- 60 12. La composición tópica para usar según la reivindicación 11, en donde la composición se formula como una pasta de dientes.
13. La composición tópica para usar según la reivindicación 11, en donde la composición tópica comprende la incorporación de la atorvastatina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma a carne de vacuno, cerdo, cordero, pollo y/o huesos de pavo, cartílagos o cualquier sustancia que el animal pueda masticar o a piensos, como galletas y bolitas y en donde el uso es para tratar animales.

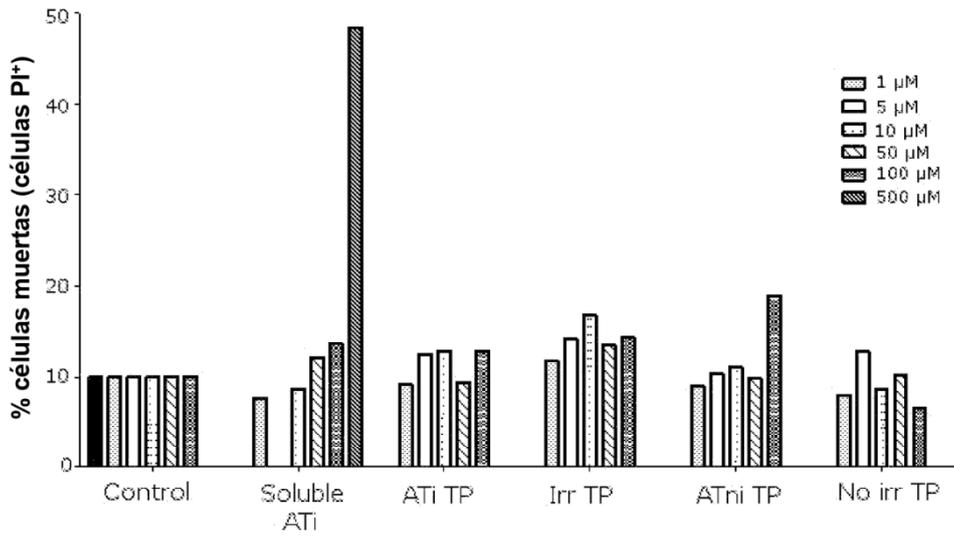


Figura 1

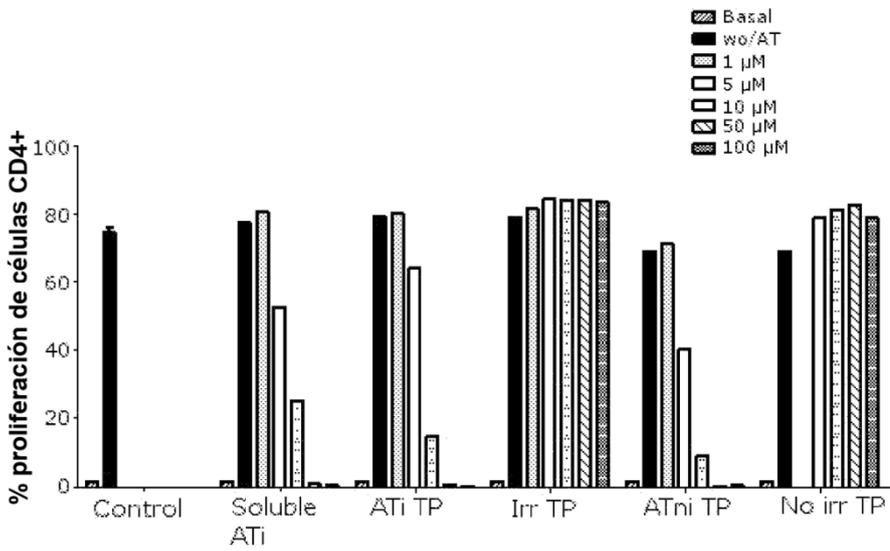


Figura 2