

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Postgrados

**Estudio in vivo de la eficacia de la Fototerapia (Láser Diodo de GaAlAs
más Sustancia Fotosensibilizante) como coadyuvante de la Terapia
Básica Periodontal en el tratamiento de la enfermedad periodontal**

María Dolores Machado Salamea

Mauricio Tinajero, Dr., Director de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Especialista en
Periodoncia

Quito, mayo de 2013

Universidad San Francisco de Quito

Colegio de Postgrados

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**Estudio in vivo de la eficacia de la Fototerapia (Láser Diodo de GaAlAs
más Sustancia Fotosensibilizante) como coadyuvante de la Terapia
Básica Periodontal en el tratamiento de la enfermedad periodontal**

María Dolores Machado Salamea

Mauricio Tinajero, Dr.
Director de Tesis y
Miembro del Comité de Tesis

Iván Bedoya, Dr.
Miembro del Comité de Tesis

Mónica Mancheno, Dra.
Miembro del Comité de Tesis

Francisco Andrade Marín, Dr.
Miembro del Comité de Tesis

Germán Moreno, Dr.
Director del Postgrado de Periodoncia

Fernando Sandoval, Dr.
Decano de la Escuela de Odontología

Victor Viteri Breedy, Ph.D.
Decano del Colegio de Postgrados

Quito, mayo de 2013

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma: _____

Nombre: María Dolores Machado Salamea

C. I.: 0103983391

Fecha: Mayo de 2013

Dedicatoria

La presente tesis se la dedico con todo amor y cariño a mi madre y hermanos, pilares fundamentales en mi vida.

A mi Rosita. Los estudios me impidieron compartir más tiempo físico con ella; sin embargo siempre me acompañara a lo largo de mi vida dentro de mi corazón.

A mis viejitas Mamita Teresa y Zoilita, que a través de sus rezos han intercedido por mí frente a Dios.

A ellos les dedico todo mi esfuerzo y trabajo puestos para la realización de este proyecto.

Agradecimientos

Mi agradecimiento a Dios por haber guiado mi camino, dado las fuerzas necesarias y permitirme llegar hasta este momento tan importante y lograr una meta más en mi vida.

En estas líneas es mi deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda y/o apoyo han colaborado en la realización del presente trabajo.

Un agradecimiento especial a mi Profesor y Tutor Dr. Mauricio Tinajero por hacer posible esta tesis.

A mis profesores que me han forjado como una profesional en esta etapa.

Gracias a mis padres y familia; por su amor, preocupación y apoyo incondicional.

Gracias a Eduardo, por todos los momentos compartidos; porque su apoyo, colaboración e inspiración me acompañaron y me permitieron culminar esta trayectoria de aprendizaje y conocimientos.

Gracias a Nancy y Eduardo H. por todo el cariño, ayuda y paciencia.

Finalmente, debo agradecer al personal del Hospital Mariano Estrella por su gentileza, al área de odontología por su colaboración; y de manera especial al Director Dr.

Luis Ochoa por permitirme y brindarme todas las condiciones necesarias para ejecutar mi proyecto en mencionado centro de salud.

Resumen

Objetivo: Evaluar los efectos clínicos antimicrobianos de la Terapia Fotodinámica (PDT); mediante el uso del láser de baja potencia combinado con el fotosensibilizador azul de metileno (MB); como tratamiento coadyuvante de la terapia básica periodontal de raspado y alisado radicular (RAR).

Material y Métodos: Treinta pacientes con enfermedad periodontal crónica (EPC) fueron incluidos en el estudio. Todos los sujetos debían presentar al menos 3 dientes con profundidad de sondaje de 5mm a 8mm. Los sujetos de forma aleatoria fueron asignados al grupo control y al grupo de estudio; a todos se les realizó el detartraje supragingival - subgingival mediante ultrasonido, además de RAR; solo el grupo de estudio fue tratado adicionalmente con PDT. Antes de iniciar el tratamiento los parámetros medidos fueron Profundidad de Sondaje (PS), Recesión Relativa (RR), Nivel de Inserción Relativa (NIR), Índice de Sangrado Marginal (ISM), Índice de Placa (IP), e Índice Gingival (IG); estos indicadores fueron reevaluados a los 90 días posteriores al tratamiento.

Resultados: Todos los indicadores de enfermedad periodontal decrecieron a los tres meses después del tratamiento en ambos grupos. Sin embargo la mayor disminución de los valores se registro en el grupo estudio; a excepción de la RR cuya disminución fue ligeramente mayor en el grupo control.

La PS descendió de $\bar{x}=5,33\text{mm}$ a $\bar{x}=3,62\text{mm}$ en el grupo control y de $\bar{x}=5,52\text{mm}$ a $\bar{x}=3,45\text{mm}$ en el grupo test ($p>0,05$). La RR disminuyo ligeramente de $\bar{x}= -0,17\text{mm}$ a $\bar{x}= -0,78\text{mm}$ en el grupo control y $\bar{x}= -0,30\text{mm}$ a $\bar{x}= -0,89\text{mm}$ en el grupo experimental ($p>0,05$). El NIR disminuyo de $\bar{x}=5,49\text{mm}$ a $\bar{x}=4,41\text{mm}$ en el grupo control y de $\bar{x}=5,84\text{mm}$ a $\bar{x}=4,35\text{mm}$ en el grupo test ($p>0,05$). El ISM se redujo significativamente del 98,7% al 51,6% en el grupo control y de 98,4% al 43,8% en el grupo experimental ($p>0,05$). El índice de placa bajo de 99,4% a 96,1% para el grupo control y 99% a 89,7% en el grupo estudio ($p<0,05$). Las medias del índice gingival decrecieron de $\bar{x}=2,31$ a $\bar{x}=1,38$ en el grupo control y de $\bar{x}=2,37$ a $\bar{x}=1,18$ en el grupo test ($p<0,05$).

Conclusión: La PDT como tratamiento coadyuvante de la terapia básica periodontal, logra mejores resultados en disminuir los signos clínicos de inflamación de la Enfermedad periodontal al incrementar la muerte bacteriana; sin embargo en la mayor parte de indicadores de enfermedad periodontal estos valores no demuestran efectos adicionales con respecto al uso de la terapia convencional sola.

Palabras clave: Terapia Fotodinámica, Terapia Básica Periodontal, Enfermedad Periodontal Crónica, Láser Blando Terapéutico.

Abstract

Objective: The purpose of this study was to evaluate the clinical and antimicrobials effects of photodynamic therapy; by using low power laser combined with the methylene blue photosensitizer, as adjunctive therapy to basic periodontal scaling and root planing (RAR).

Material and Methods: Thirty patients with chronic periodontal disease (EPC) were included in the study. All subjects exhibited at least 3 teeth with a pocket depth of 5mm to 8mm. Subjects were randomly assigned to a control group and the study group; all were treated for supragingival and subgingival scaling using a ultrasound in addition of root planing; only the study group was additionally treated with PDT. Before starting treatment, parameters were measured: Probing Depth (PS), Recession Relative (RR), Relative Attachment Level (NIR), Marginal Bleeding Index (ISM), Plaque Index (PI), and Gingival Index (GI), these indicators were reevaluated at 90 days after treatment.

Results: All indicators of periodontal disease decreased at three months after treatment in both groups. However, the largest values decrease was recorded in the study group, with the exception of the RR which decrease was slightly higher in the control group.

The mean PS descended from $\bar{x}=5,33\text{mm}$ to $\bar{x}=3,62\text{mm}$ in the control group and from $\bar{x}=5,52\text{mm}$ to $\bar{x}=3,45\text{mm}$ in the group test ($p>0,05$). RR was slightly reduced from $\bar{x}=-0,17\text{mm}$ to $\bar{x}=-0,78\text{mm}$ in the control group and from $\bar{x}=-0,30\text{mm}$ to $\bar{x}=-0,89\text{mm}$ in the experimental group ($p>0,05$). NIR decreased from $\bar{x}=5,49\text{mm}$ to $\bar{x}=4,41\text{mm}$ in the control group and from $\bar{x}=5,84\text{mm}$ to $\bar{x}=4,35\text{mm}$ in the test group ($p>0,05$). The ISM was significantly reduced from 98,7% to 51,6% in the control group and from 98,4% to 43,8% in the experimental group ($p>0,05$). IP was reduced from 99,4% to 96,1% in the control group and 99% to 89,7% in the study group ($p<0,05$). The mean IG decreased from $\bar{x}=2,31$ to $\bar{x}=1,38$ in the control group and from $\bar{x}=2,37$ to $\bar{x}=1,18$ in the test group ($p<0,05$).

Conclusion: The PDT as an adjunctive treatment to scaling and root planing, achieves better results in reducing clinical signs of inflammation of the periodontal disease and increases bacterial eradication. However in most of periodontal disease indicators these values show no additional effects as compared with conventional treatment alone.

Key words: Photodynamic Therapy, Scaling and Root Planing, Chronic Periodontitis, Therapeutic Soft Laser.

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. JUSTIFICACIÓN.....	20
3. MARCO TEÓRICO	21
3.1. RESEÑA HISTÓRICA	24
3.2. TERAPIA FOTODINÁMICA EN PERIODONCIA	26
3.3. SEGURIDAD DE LA FOTOTERAPIA	27
3.4. TERAPIA FOTODINÁMICA	29
3.4.1. REACCIÓN FOTODINÁMICA.....	32
3.4.2. EFECTO DEL OXÍGENO SINGLETE SOBRE LOS ORGANISMOS CELULARES	34
3.4.3. FUENTES DE LUZ	35
3.4.4. AGENTE FOTOSENSIBILIZANTE.....	37
3.4.4.1. PROPIEDADES ÓPTIMAS DE UN FOTOSENSIBILIZADOR	39
3.4.4.2. COLORACIÓN O TINCIÓN.....	39
3.4.4.3. AZUL DE METILENO.....	42
3.4.4.4. AZUL DE TOLUIDINA	44
3.4.4.5. EFECTOS EN EL BIOFILM ORAL	47
3.5. PATOGENIA	48
3.5.1 PORPHYROMONA GINGIVALIS	52

3.6. ESTUDIOS DE FOTOTERAPIA APLICADOS A LA ELIMINACIÓN BACTERIANA	56
4. OBJETIVOS	74
4.1. OBJETIVO GENERAL	74
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	74
5. HIPOTESIS	75
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	75
6.1. MATERIALES.....	75
6.1.1. LOCALIZACIÓN	75
6.1.2. CARACTERIZACIÓN DE LA ZONA DE TRABAJO	76
6.1.3. PERIODO DE INVESTIGACIÓN	77
6.1.4. RECURSOS A EMPLEAR.....	78
6.1.4.1. RECURSOS HUMANOS	78
6.1.4.2. Recursos Físicos o Materiales	78
6.1.5. UNIVERSO Y MUESTRA.....	79
6.1.5.1. UNIVERSO.....	79
6.1.5.2. MUESTRA	79
6.2. MÉTODO	79
6.2.1. DISEÑO DE ESTUDIO	79
6.2.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	80
6.2.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	80

	12
6.2.4. GRUPOS DE ESTUDIO	81
6.2.5. VARIABLES	82
6.2.6. METODOLOGÍA.....	82
6.2.6.1. SELECCIÓN Y RECLUTAMIENTO DE PACIENTES	82
6.2.6.2. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	84
6.2.6.3. INSTRUCCIÓN DE HIGIENE ORAL.....	85
6.2.6.4. CONFORMACIÓN DE GRUPOS Y LLENADO DE ÍNDICES PERIODONTALES	86
6.2.6.5. GRUPO DE CONTROL	87
6.2.6.6. GRUPO EXPERIMENTAL O DE ESTUDIO.....	88
6.3. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	91
6.4. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES	92
7. RESULTADOS	93
8. DISCUSIÓN.....	111
9. CONCLUSIONES.....	116
10. LIMITANTES Y RECOMENDACIONES	116
11. BIBLIOGRAFIA	118
12. ANEXOS.....	122

ÍNDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. SISTEMA DE TERAPIA FOTODINÁMICA HELBO	61
Gráfico 2. HOSPITAL MARIANO ESTRELLA	76
Gráfico 3. SECTOR LAZARETO - SININCAY	77
Gráfico 4. ENTRADA AL HOSPITAL MARIANO ESTRELLA	82
Gráfico 5. ODONTOLOGÍA HOSPITAL MARIANO ESTRELLA	83
Gráfico 6. ANAMNESIS Y EXAMEN CLÍNICO	84
Gráfico 7. INSTRUCCIÓN Y MOTIVACIÓN DE HIGIENE ORAL.....	85
Gráfico 8. TÉRAPIA BÁSICA PERIODONTAL CONVENCIONAL.....	87
Gráfico 9. LÁSER DIODO DE BAJA POTENCIA DE GaAlAs.....	88
Gráfico 10. AZUL DE METILENO (Chimiolux).....	89
Gráfico 11. APLICACIÓN SUBGINGIVAL DEL AZUL DE METILENO	90
Gráfico 12. APLICACIÓN LÁSER	91
Gráfico 13. BOX-PLOT (MEDIAS, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS) DE LA PS ANTES Y DESPUÉS DE 3 MESES DEL TRATAMIENTO DEL G. CONTROL Y DEL G. EXPERIMENTAL.....	96
Gráfico 14. BOX-PLOT (MEDIAS, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS) DE LA RR ANTES Y DESPUÉS DE 3 MESES DEL TRATAMIENTO DEL G. CONTROL Y DEL G. EXPERIMENTAL.....	100
Gráfico 15. BOX-PLOT (MEDIAS, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS) DEL NIR ANTES Y DESPUÉS DE 3 MESES DEL TRATAMIENTO DEL G. CONTROL Y DEL G. EXPERIMENTAL.....	103
Gráfico 16. VALORES PORCENTUALES DEL ÍNDICE DE SANGRADO MARGINAL G. CONTROL - G. EXPERIMENTAL	104

Gráfico 17. VALORES PORCENTUALES DEL ÍNDICE DE PLACA G. CONTROL - G.
EXPERIMENTAL 106

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. PROFUNDIDAD DE SONDAJE - GRUPO CONTROL	94
Tabla 2. PROFUNDIDAD DE SONDAJE - GRUPO EXPERIMENTAL.....	95
Tabla 3. RECESIÓN RELATIVA - GRUPO CONTROL.....	98
Tabla 4. RECESIÓN RELATIVA - GRUPO EXPERIMENTAL	98
Tabla 5. NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA - GRUPO CONTROL.....	101
Tabla 6. NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA - GRUPO EXPERIMENTAL.....	102
Tabla 7. ÍNDICE GINGIVAL GRUPO CONTROL	108
Tabla 8. ÍNDICE GINGIVAL GRUPO EXPERIMENTAL.....	109
Tabla 9. VALORES (MEDIA \bar{x}) DE LOS DATOS CLÍNICOS ANTES Y DESPUES DE TRES MESES DEL TRATAMIENTO DE EL G. CONTROL Y DE EL G. EXPERIMENTAL. ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO ENTRE LOS DOS GRUPOS	110

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

GaAlAs: Arseniuro de Galio y Aluminio (Láser de Diodo)

Láser: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificación de Luz por Emisión Estimulada de Radiación)

PDT: Photodynamic Therapy (Terapia Fotodinámica)

TBO: Toluidine Blue “O” (Azul de Toluidina “O”)

MB: Methylene Blue (Azul de Metileno)

RAR: Raspado y Alisado Radicular

ROS: Reactive Oxygen Species (Especies de oxígeno reactivas)

Pg: *Porphyromona gingivalis*

LPS: Lipopolisacáridos

IL: Interleucina

EP: Enfermedad Periodontal

EPC: Enfermedad Periodontal Crónica

IP: Índice de Placa

IG: Índice Gingival

ISM: Índice de Sangrado Marginal

PS: Profundidad de Sondaje

NIR: Nivel de Inserción Relativa

RR: Recesión Relativa

ALA: 5-aminolevulinic acid (ácido 5-aminolevulinico)

\bar{x} : Media aritmética

GC: Grupo Control

GE: Grupo Experimental

1. INTRODUCCIÓN

La Periodontitis es definida como “enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte del diente, causada por microorganismos específicos, que provocan la destrucción progresiva de la membrana periodontal y del hueso alveolar, con formación de bolsas periodontales y recesión gingival” (según Caton, 1989 citado en el estudio de Pejčić & Zivković, 2007). Además cabe recalcar que la enfermedad periodontal es de gran prevalencia en la población adulta (Kömerik, Nakanishi, MacRobert, Henderson, Speight, and Wilson, 2003), (Raghavendra, Koregol, Bholá, 2009).

Se cree que el inicio y la progresión de la enfermedad periodontal se debe al resultado de la compleja interacción entre las bacterias que han colonizado el surco gingival y la respuesta inmuno-inflamatoria del huésped susceptible (Del Río, 2006), (Page, Schroeder, 1981).

Es así que el factor etiológico bacteriano, es el responsable de los procesos inflamatorios que se producen y manifiestan en los tejidos que rodean al diente, y que resultan en la destrucción del tejido conectivo y la pérdida de hueso alveolar. Por esto, un pilar para el éxito en la terapia periodontal es la eliminación de las bacterias patógenas; de esta manera se logra la reducción o eliminación de los signos de inflamación. En ocasiones lastimosamente, esto no se puede lograr con una terapia convencional de raspado y alisado radicular, como sucede en aquellas zonas de difícil acceso como furcaciones, concavidades o invaginaciones; o como en el caso de la terapia antimicrobiana y su dificultad de mantener concentraciones terapéuticas en la cavidad oral, y cuya ineficacia cada día es más común por el desarrollo de resistencia bacteriana a los mismos. Es así que un método

alternativo de tratamiento se hace necesario (Dörtbudak, Haas, Bernhart, Matejka, 2002), (Kömerik et al., 2003), (Qin, Luan, Bi, Sheng, Zhou, Zhang, 2008), (Raghavendra et al., 2009).

La enfermedad periodontal ha sido asociada con la presencia de una microbiota subgingival variada y numerosa, aunque según la hipótesis de placa específica de las más de 500 especies descritas dentro de la flora oral solamente 20 son consideradas patógenas potenciales (Moore & Moore, 1994).

Como un nuevo tratamiento en odontología, en vista a ciertas restricciones en el tratamiento mecánico convencional y químico de terapia periodontal; hoy en día con el desarrollo del láser en el ámbito médico, existen diversos estudios, en los cuales la luz láser potencializa la acción de ciertas sustancias que las llamamos fotosensibilizadoras, las cuales van a actuar eliminando el factor bacteriano sin causar lesión en los tejidos del huésped. Entre los fotosensibilizadores inocuos y de resultados exitosos encontramos el azul de toluidina y el azul de metileno. A este innovador tratamiento se lo ha llamado Terapia Fotodinámica o Fototerapia, que antes únicamente era aplicado en el área de oncología para el tratamiento de tumores eliminando las células alteradas, y ahora en odontología para eliminación bacteriana con excelentes resultados según muchos estudios, tanto para la eliminación de microorganismos Gram positivos como para Gram negativos sin que estos desarrollen resistencia alguna y con seguridad para los tejidos del huésped y la microflora normal (Raghavendra et al., 2009).

Cabe señalar que según diferentes estudios la efectividad de la terapia fotodinámica es mayor en la reducción de los microorganismos pigmentados de negro, tal es el caso de la

Prevotella intermedia y de la *Porphyromona gingivalis*; este último es uno de los periodontopatógenos más conocido y considerado como uno de los principales en la etiología de la enfermedad periodontal. Esta bacteria está fuertemente asociada al inicio y progresión de la enfermedad periodontal; pero que coloniza tardíamente la cavidad oral, ya que necesita la presencia de ciertas especies bacterianas como colonizadores primarios siendo los más conocidos el *Streptococci bucales*, *Actinomyces naeslundii* y otros colonizadores más tardíos son el *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythensis*; sobre los cuales también actuará la Fototerapia (Dahlén, Manji, Baelum, Ferjerskov, 1989), (Del Rio, 2006), (Haffajee, Socransky 1994), (Kömerik et al., 2003), (Lamont & Jenkinson 1999), (Slots, Bragd, Wikström, Dahlén, 1986), (Krespi, Slatkine, Marchenko, Protic, 2005).

2. JUSTIFICACIÓN

El propósito de este estudio es el ofrecer otra alternativa terapéutica, diferente a las convencionales en el tratamiento de la enfermedad periodontal y perimplantar. De tal manera que la terapia de fotosensibilización nos permita lograr el éxito en la salud de los tejidos periodontales en ciertos casos de difícil acceso ya sea por la anatomía radicular como en el caso de las furcas o por mala posición dental; es decir en aquellos casos donde la terapia básica periodontal resulta insuficiente; o en aquellos individuos donde existe resistencia bacteriana a la terapia antimicrobiana.

También es muy aplicable en los casos de periimplantitis donde se encuentra limitada la posibilidad de raspar. El objetivo es evitar la pérdida de hueso alveolar que se produce en la enfermedad periodontal, con la eliminación de los periodontopatógenos causantes de esta destrucción.

3. MARCO TEÓRICO

La enfermedad periodontal es catalogada como una infección multifactorial; causada por un complejo de especies bacterianas que interactúan con los tejidos y células del anfitrión causando la liberación de una gran variedad de citocinas, quimiocinas y mediadores inflamatorios; lastimosamente la acción de algunos de ellos da lugar a la destrucción de las estructuras periodontales (tejidos del soporte dentario: hueso alveolar, ligamento periodontal) (Holt & Ebersole, 2006).

La presencia de biopelículas microbianas complejas constituye el desencadenante para el inicio de la enfermedad periodontal, las que colonizan las regiones sulculares entre la superficie dental y el margen gingival por medio de interacciones de adherencia específicas y acumulaciones debidas a cambios arquitectónicos en el surco (perdida de inserción y formación de bolsa periodontal) (Holt et al., 2006).

La presencia bacteriana juega un rol preponderante en la etiología de la enfermedad periodontal, y es característica en esta progresiva enfermedad la presencia de procesos inflamatorios. El control de placa y el planeamiento de una terapia básica de raspado y alisado radicular para eliminación de placa y cálculos supra y subgingivales pueden ayudar a retardar o detener el progreso de la enfermedad periodontal; al igual que el uso combinado de agentes antimicrobianos sistémicos convenientes con la terapia mecánica tales como penicilinas (amoxicilina), quinolonas (ciprofloxacino), tetraciclinas (doxiciclina), metronidazol, eritromicina, azitromicina, entre otros; sin embargo es difícil mantener las dosis terapéutica adecuada, y en algunos casos se presentan resistencias bacterianas, sumado con trastornos gastrointestinales; y la accesibilidad para la

instrumentación se ve imposibilitada por la anatomía radicular; además el uso prolongado de los antisépticos también puede dar lugar al desarrollo de la resistencia bacteriana a los mismos. Es por esto que se propone una nueva terapia en los tratamientos periodontales la cual tiene sus principios en la fotodinamia la cual combina el uso de un láser de baja potencia con la aplicación de un agente fotosensibilizante el cual puede ser un tinte como el azul de toluidina o el azul de metileno (Committee on Research, Science and Therapy, 1996), (Dörbudak et al., 2002), (Del Rio, 2006), (Krespi et al. 2005), (Raghavendra et al., 2009), (Sakar & Wilson, 1993), (Sigusch, Engelbrecht, Völpel, Holletschke, Pfister, Schütze, 2010)

La administración local de antimicrobianos ha demostrado resultados beneficiosos observados con la tetraciclina, minociclina, metronidazol y clorhexidina (Bonito et al. 2005, citado por Braun, Dehn, Krause, Jepsen, 2008) sin embargo es difícil mantener una concentración terapéutica en la bolsa periodontal y se ha incrementado el desarrollo de resistencia bacteriana. El uso de antimicrobianos generalmente está restringido a un grupo específico de pacientes periodontales por ejemplo los de alta actividad de enfermedad periodontal o de un perfil específico de microorganismos (Herrera et al., 2002, citado por Braun et al., 2008)

En una recopilación de diversos estudios en periodoncia; la terapia fotodinámica elimina tanto a Gram positivos como a Gram negativos sin que los mismos desarrollen algún tipo de resistencia bacteriana y con la seguridad de mantener la integridad de los tejidos del huésped y de su microflora normal (Raghavendra et al., 2009). Las investigaciones describen la eliminación de microorganismos como el *Streptococcus sanguis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Sarcina lutea*, *Escherichia coli*, *Pseudomona*

aeruginosa, e incluso investigaciones como la de Haas et al. (1997) citado por Dörbudak et al. (2002), demostraron experimentalmente la eliminación completa de los periodontopatógenos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella Intermedia* y de la *Porphyromona gingivalis*; este último periodontopatógeno es uno de los principales causantes de enfermedad periodontal, y sobre el cual existen la mayor parte de estudios de aplicación de la terapia fotodinámica con resultados exitosos (Dörbudak et al., 2002), (Qin et al., 2008).

Incluso estudios han demostrado resultados de éxito de la letal fotosensibilización sobre ciertos microorganismos que ya han desarrollado resistencia a potentes antimicrobianos (vancomicina, teicoplanina) como lo es el *Staphylococcus aureus* q es el mayor causante de las infecciones nosocomiales o intrahospitalarias en los EEUU (Embleton, Nair, Heywood, Menon, Cookson and Wilson, 2005).

Aproximadamente 700 taxones bacterianos, filotipos y especies, que muestran cierta organización estructural en las biopelículas, pueden colonizar la cavidad oral de los seres humanos; aunque no es tan claro como esta multitud de microorganismos compiten, coexisten y/o sinergizan para iniciar este proceso patológico crónico como lo es la enfermedad periodontal. Una comunidad microbiana que aparece más tarde en el desarrollo de la biopelícula es el llamado “complejo rojo” que comprende especies consideradas patógenos periodontales y son: *Porphyromona gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*, las cuales se presentan en la biopelícula en el período clímax de la comunidad y en las zonas que muestran una progresión de la periodontitis (Hold et al., 2006).

3.1. RESEÑA HISTÓRICA

Los egipcios hace más de 4000 años fueron los que iniciaron la fototerapia, por medio de la ingesta de plantas que contienen psoralenos (apio, perejil), y posteriormente se exponían a la luz solar, de esta forma trataban enfermedades como el vitíligo (Cargnelutti, 2007)

Sin embargo la técnica científicamente comenzó a utilizarse recién a inicios del siglo pasado, cuando los investigadores encontraron que los microorganismos podían ser susceptibles a la luz visible con un componente fotosensibilizante (Raghavendra et al., 2009), (Cargnelutti, 2007).

Es así que en 1900, Raab y colaboradores fueron los primeros en mostrar la muerte del protozoo *Paramecium caudatum* en presencia de acridina naranja irradiada con luz visible. La combinación de estos dos elementos no tóxicos (colorante y luz) en un medioambiente oxigenado dio lugar al daño y destrucción de este microorganismo (Raghavendra et al., 2009), (Cargnelutti, 2007).

Trappeiner en 1903, mediante la aplicación tópica de eosina y la exposición a la luz; dio tratamiento al cáncer de piel (Cargnelutti, 2007).

Jodlbaner y Von Tappeiner, en 1904 nombraron el término de Fotodinamia, al describir la dependencia del oxígeno para inducir reacciones químicas por fotosensibilización, lo que podía inactivar a las bacterias (Raghavendra et al., 2009).

En 1978, Daugherty y colaboradores; lograron aplicar esta nueva técnica al tratamiento de diferentes cánceres (Dörtbudak et al., 2002).

En lo referente a los resultados de la fototerapia (procedimiento que en el ámbito médico ya era aplicado para el tratamiento de tumores); se pensó en una posible relación entre las células tumorales y los microorganismos, en cuanto a su acción; porque los dos tienen una alta proliferación y activo metabolismo. Además la acumulación de diferentes fotosensibilizadores en los microorganismos daba a pensar que la fotodinamia podría ser efectiva (Raghavendra et al., 2009). La acumulación de específicos tintes en células tumorales como en microorganismos se produce en mayores cantidades que en las células normales (Krespi et al., 2005).

Debido a que la porfirina tenía una actividad limitada sobre las bacterias Gram negativas, se realizaron estudios con otros fotosensibilizadores como la cianida la cual era efectiva contra especies Gram positivas y Gram negativas (Raghavendra et al., 2009).

En 1999 la terapia fotodinámica fue aceptada por la FDA (US Food and Drug Administration) para el tratamiento de lesiones precancerosas de la piel de la cara y del cuero cabelludo. En la actualidad la fototerapia se sigue abriendo campo en otras áreas como la virología, microbiología, inmunología, dermatología y odontología (Raghavendra et al., 2009).

En odontología la terapia fotodinámica, se inicio con el uso del láser de alta potencia pero además de ser más complicado su uso, de difícil transportación y de alto

costo, se evidencio su efecto fototermal en las bacterias pero también en los tejidos del huésped (Sakar et al., 1993).

Posteriormente se utilizó el láser de baja potencia, el cual es menos complicado de usar, de bajo costo y fácil transportación; y diversos estudios demostraron que no causaba efecto nocivo sobre los tejidos del huésped. En la actualidad existen diversas fuentes de luz; de entre las que se destaca la fuente de luz LED (Light – emitting diodes) (Raghavendra et al., 2009), (Kanopka & Godlindki, 2007)

3.2. TERAPIA FOTODINÁMICA EN PERIODONCIA

El biofilm en la cavidad oral es el factor etiológico de las patologías orales más comunes que son la caries y la enfermedad periodontal. En la enfermedad periodontal un efectivo tratamiento de la misma se logra cambiando su medioambiente (remoción mecánica del biofilm dental por medio de la terapia básica periodontal) y por ende inhibiendo el crecimiento de los patógenos periodontales (Sigusch et al., 2010). Los microorganismos se encuentran en una matriz gelatinosa llamada glicocalyx, lo que causa una menor accesibilidad de los antibióticos, por lo que su uso en la terapia periodontal no causa la ruptura de este biofilm, resultando en el fracaso del tratamiento; además de la dificultad de mantener la concentración terapéutica en los sitios y microorganismos blancos pudiendo desarrollarse resistencia a estos antimicrobianos. La terapia fotodinámica minimiza la resistencia de los microorganismos; es así que los polisacáridos presentes en la matriz extracelular del biofilm oral son altamente sensibles al oxígeno singlete y susceptibles al foto-daño. Al romper el biofilm se puede inhibir el intercambio de

plásmidos involucrados en la transferencia de la resistencia a los antimicrobianos, y lograr romper la colonización (Raghavendra et al., 2009).

La fototerapia es igualmente efectiva sobre bacterias resistentes a los antibióticos. Algunas enzimas antioxidantes producidas por las bacterias las pueden proteger contra algunos radicales de oxígeno, pero no contra el oxígeno singlete (Embleton et al., 2005), (Raghavendra et al., 2009).

La fototerapia o también llamada fotoquímico terapia, puede ser un complemento ideal a la terapia convencional de raspado y alisado radicular. La terapia fotodinámica emplea un rápido y simple protocolo que logra la muerte de la bacteria, e inactivar los factores de virulencia después del RAR; y puede ser usada al inicio y como mantenimiento del tratamiento periodontal. Tanto in vivo como in vitro se han reportado exitosos resultados de la PDT (Raghavendra et al., 2009).

3.3. SEGURIDAD DE LA FOTOTERAPIA

La ausencia de efectos genotóxicos y mutagénicos constituye un factor importante de seguridad en la aplicación de largos tratamientos (Konopka et al., 2007).

Trastornos gastrointestinales como ocurre con el uso de antibióticos, en la PDT están descartados ya que esta terapia es localizada y de naturaleza no invasiva (Kömerik et al., 2003)

Komerik & MacRobert (2006) afirman que el oxígeno singlet causa efectos tóxicos sobre los microorganismos, es así que muchos fotosensibilizadores han demostrado su efectividad contra microorganismos blancos sin causar daño sobre los tejidos del huésped en el estudio citado por Braun et al. (2008).

La resistencia bacteriana a la PDT difícilmente podría aparecer ya que su actividad bactericida se debe al oxígeno singlet y a otra especie reactiva como los radicales hidroxilos, los cuales afectan a las células blanco (Kömerik et al., 2003), (Krespi et al., 2005).

Los mayores efectos de los fotosensibilizantes se producen cuando su administración es intravenosa, debido a que su eliminación podría durar horas o semanas. Las reacciones de fotosensibilidad a cualquier tipo de luz pueden ocurrir minutos después de su aplicación, por lo que se recomienda precauciones en la piel como para los ojos, ya que puede producirse desde enrojecimientos hasta quemaduras de primer y segundo grado. En ciertos casos se ha registrado acumulación en el organismo del agente fotosensibilizante por meses, requiriendo el paciente cambiar su estilo de vida durante ese tiempo. Una vez que se ha eliminado del organismo el agente fotosensibilizante el paciente puede retornar a su modo de vida normal. Casos de dolor se han reportado horas después de aplicar la PDT. Con la aplicación tópica del ALA (5-aminolevulinic acid) los pacientes han reportado sensación de quemazón en el momento de la iluminación (Konopka et al., 2007).

El objetivo del estudio de Pejic y Zivkovic (2007); fue examinar histológicamente la encía tratada con láser de baja potencia y la encía tratada con terapia convencional (raspado y alisado), y comparar los efectos. Antes de cualquier tratamiento la encía

inflamada histológicamente mostraba engrosamiento de la capa basal del epitelio gingival con daños parciales, marcada inflamación en el tejido conectivo (linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares), además de un infiltrado de células inflamatorias en ciertos lugares del epitelio gingival y numerosos vasos sanguíneos, algunos con paredes engrosadas. Después del tratamiento convencional histopatológicamente la gíngiva mostró signos de regeneración epitelial, disminución del número de células inflamatorias y un estroma parcial de colagenización. Al análisis histopatológico después de la terapia convencional con posterior fototerapia, la gíngiva indicaba completa regeneración de los tejidos gingivales con pocas células inflamatorias, y marcada homogenización del colágeno en el tejido (después de diez aplicaciones).

3.4. TERAPIA FOTODINÁMICA

La terapia fotodinámica en inglés Photodynamic Therapy identificada con las siglas PDT; es conocida también como Terapia de Fotorradiación, Fotoquímico terapia, o simplemente como Fototerapia. Consiste en el uso de un tinte fotoactivador al cual se lo llama Fotosensibilizador o Sustancia Fotosensibilizadora, el cual actúa cuando es expuesto a la luz de una longitud de onda específica en presencia de oxígeno; la cual puede eliminar a microorganismos patógenos de infecciones localizadas (Bhatti, MacRobert, Henderson, Shepherd, Cridland, Wilson, 2000), (Kömerik et al., 2003). La energía transmitida desde el fotosensibilizador activado al oxígeno disponible da lugar a la formación de especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species; (ROS)) tóxicas como lo es el llamado oxígeno singlete y radicales libres. Estas especies químicas muy reactivas causan daños en

los lípidos, proteínas, ácido nucleico y en otros componentes celulares (Braun et al. 2008), (Kömerik et al., 2003), (Konopka et al., 2007).

Wilson y Patterson (1986) citado por Sarkar (1993, p.208); aseguran en su estudio que las células microbianas y de mamíferos son transparentes a la luz visible producida por un láser de bajo poder sin tener efectos adversos a tal radiación; sin embargo si estas células son marcadas por una sustancia química sensibilizadora absorben la luz de la longitud de onda producida por el láser produciendo un estado de excitación, que puede causar ciertos efectos fotobiológicos e incluso la muerte celular. Resultando beneficiosa esta propiedad en el tratamiento de tumores (Sarkar, S. and Wilson, M. 1993).

La Fotosensibilización a demostrado resultados efectivos contra gran variedad de Gram-positivos, Gram-negativos, microorganismos resistentes a antimicrobianos, bacterias orales y microorganismos cutáneos (Embleton et al., 2005). Por lo tanto podemos considerar que la fotosensibilización letal no es específica; se ha demostrado que causa daños en el DNA y membrana celular de neoplasmas, hongos, virus y bacterias. La eficacia de la eliminación depende principalmente de la estructura de la envoltura celular (Orellana, Villén, Jiménez-Hernández, n.d.).

La ventaja de la no especificidad de la fotosensibilización es que en el caso de infecciones mixtas causa la muerte de todas las bacterias, pero algunos investigadores consideran que lamentablemente las bacterias comensales y los tejidos del huésped también se ven afectados (Bhatti et al., 2000), (Krespi et al., 2005).

Bhatti y colaboradores, investigan la manera en que la fotosensibilidad originada por un láser de helio-neón sobre el azul de toluidine O (TBO) sea específica para la *Porphyromona gingivalis* (*Pg*); por lo que al TBO lo conjugan con un anticuerpo murino monoclonal contra los lipopolisacáridos de la *Pg*, en presencia del *Streptococcus sanguis* (bacteria comensal de la flora oral) y de fibroblastos humanos. Los resultados demostraron que el TBO al conjugarse con el anticuerpo, logra la especificidad de la *Pg* con la eliminación de esta en un 99% y 100% de la misma (Bhatti et al., 2000).

Otro estudio implementó el uso de bacteriófagos para la conjugación del fotosensibilizador con el microorganismo blanco; logrando mejores resultados en la selectividad de la muerte del organismo, reduciendo daños colaterales en las células del huésped y en el resto de la microbiota del sitio (Embleton et al., 2005).

La terapia de fotodinamia, se la puede definir como un tratamiento médico para la erradicación de células blancas por especies de oxígeno reactivo; que es producido por la acción de luz que activa un compuesto fotosensibilizante, en una apropiada longitud de onda en presencia de oxígeno (Kömerik et al., 2003), (Konopka et al., 2007).

En medicina la PDT ha sido aplicada de manera más amplia, en el tratamiento de neoplasmas; además como antimicrobiano de numerosos microorganismos incluyendo especies orales, eliminándolas en estudios in vitro (hongos, virus y bacterias). También se ha comprobado que algunos factores de virulencia como proteasas y lipopolisacáridos, también se ven afectados y disminuidos con la PDT (Kömerik et al., 2003), (Krespi et al., 2005).

Además de proponerse la PDT para tratamiento de tumores, y para control de infecciones, como el tratamiento de llagas, y de enfermedad periodontal; algunas ftalocianinas de aluminio o zinc son eficaces agentes fotoantimicrobianos y fotoantivirales; además su uso se ha ampliado para esterilización de sangre contaminada y para desinfección del agua eliminando prácticamente la totalidad de contaminantes pudiendo en ciertos casos llegar a la mineralización total del agua (Orellana et al., n.d.).

En medicina la PDT además de ser aplicada en oncología, es utilizada en el tratamiento de la psoriasis, queratosis actínica, artritis reumatoide y degeneración macular (Konopka et al., 2007).

3.4.1. REACCIÓN FOTODINÁMICA

La terapia fotodinámica se da por tres componentes: luz, fotosensibilizador y oxígeno. El fotosensibilizador es administrado al paciente y al irradiar la luz en determinada longitud de onda, el fotosensibilizador descrito como una molécula que absorbe la luz, sufre una transición de baja energía (Ground State) a un estado singlete de excitación (Singlet State); posteriormente el fotosensibilizador podría recaer y regresar al ground state inicial con emisión de fluorescencia; o puede sufrir una transición a un estado superior de energía (higher- energy triplet state). En este estado triplete reacciona con el oxígeno endógeno y dar lugar a la producción de oxígeno singlete y a otras especies de radicales, causando la rápida y selectiva destrucción de los tejidos designados (Konopka et al., 2007), (Matevski, Weersink, Tenenbaum, Wilson, Ellen, Lépine, 2003), (Raghavendra et al., 2009).

La utilización de oxígeno para la producción de especies reactivas de oxígeno se lo denomina “Consumo Fotoquímico de Oxígeno” (Raghavendra et al., 2009).

El fotosensibilizador en estado triplete puede reaccionar con las biomoléculas mediante dos mecanismos:

- Tipo I: Consiste en la transferencia directa de moléculas electrón/hidrógeno desde el fotosensibilizador; es así que al generar iones o electrón/hidrogeno causa el levantamiento desde el sustrato molecular de formas de radicales libres, los que reaccionan rápidamente con el oxígeno produciendo especies de oxígeno reactivo (Highly Reactive Oxygen Species) como superóxidos, radicales hidroxilos, peróxido de hidrógeno (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).
- Tipo II: La reacción da lugar a una excitación electrónica y a un alto estado de oxígeno reactivo conocido como Oxígeno Singlet (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).

En la terapia fotodinámica estas dos reacciones causan daño en los tejidos/células; además es difícil distinguir entre estos dos mecanismos de reacción; simplemente se sabe que la fototerapia es una combinación de ambos procesos (Tipo I y II); y que, de la tensión de oxígeno y de la concentración del fotosensibilizador estos dependen (Konopka et al., 2007).

La PDT produce efectos citotóxicos en los organelos y moléculas celulares; sus efectos se dan en mitocondrias, lisosomas, membranas celulares y núcleo de células tumorales. Los fotosensibilizadores inducen apoptosis en las mitocondrias y necrosis en lisosomas y membranas celulares (Raghavendra et al., 2009).

3.4.2. EFECTO DEL OXÍGENO SINGLETE SOBRE LOS ORGANISMOS CELULARES

Se ha demostrado que la fototerapia es efectiva en la muerte de bacterias periodontopatógenas tales como la *Porphyromona gingivalis* y el *Fusobacterium nucleatum* in vitro (Pfitzner et al., 2004, citado por Braun et al., 2008 p.878). Incluso estudios in vivo realizados en modelos animales demuestran la eliminación de la *Porphyromona gingivalis* y como resultado una disminución de la pérdida de hueso alveolar (Kömerik et al., 2003) y un posible efecto en la supresión de los signos de inflamación (enrojecimiento y sangrado al sondaje) a causa de la eliminación de periodontopatógenos (Sigusch et al., 2005, citado por Braun et al., 2008); además en el tratamiento de periodontitis agresivas en el estudio de Oliveira et al. (2007) el RAR en comparación con la PDT mostraron similares resultados clínicos, citado por Sigusch et al. (2010).

La transferencia de energía en el estado triplete, da lugar a un estado electrónico excitado del oxígeno, el cual es controlado según la velocidad de difusión. En agua a temperatura ambiente la difusión del O₂ dura entre 3 – 5 us (milisegundos), lo que da tiempo a un recorrido libre promedio de 0,1 um (micrómetro) desde su generación hasta las

potenciales dianas. En cambio en fase gas el tiempo de vida del O₂ puede llegar hasta los 15 min. En condiciones aeróbicas durante la fotosensibilización el oxígeno singlete es el causante de los efectos tóxicos en los organismos vivos (Orellana et al., n.d.)

Los grupos sensibles al oxígeno singlete se los ha localizado en las membranas lipídicas, proteínas y ácidos nucleicos, dando lugar a daños irreversibles. El oxígeno singlet también es el responsable de la fotomodificación de otras membranas como las de glóbulos rojos, mitocondrias, microsomas y liposomas (Orellana et al., n.d.).

Se podría decir que casi todos los tipos celulares desde procariotas hasta las células de mamíferos al exponerse al O₂; da lugar a daños letales en las células conduciendo a la muerte de las mismas (Orellana et al., n.d.).

Estudios en seres humanos indican que las células fagocíticas como mecanismo de defensa generan oxígeno singlete; igualmente este es un producto secundario de algunas reacciones enzimáticas (Orellana et al., n.d.).

3.4.3. FUENTES DE LUZ

Para la activación del fotosensibilizador es necesaria la exposición al láser o simplemente a la luz visible (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).

Anteriormente se realizaba la fototerapia con sistemas complejos y caros como lo es el láser de alta potencia (láser de Argón, CO₂ y de Nd/YAG); infortunadamente existió

daño térmico en los tejidos, con vaporización y corte de tejidos blandos y duros (Quin et al., 2008), (Sakar & Wilson, 1993), (Wilson et al., 1993). Posteriormente se cambió al uso de láseres de diodo o de baja potencia que son mucho más manejables, de fácil transportación y más económicos, no generan temperaturas significantes en los tejidos y tienen cierto efecto bactericida (Konopka et al., 2007), (Sakar et al., 1993). Además, los láser de bajo poder poseen otros beneficios: mejoran la cicatrización de heridas, efecto antiinflamatorio (reduce la prostaglandina E2), beneficios inmunológicos y analgésicos, efecto bioestimulador (estimula proliferación celular, ejemplo los fibroblastos gingivales) (Polansky, Haas, Heschi and Wimmer, 2009).

Actualmente existen otras fuentes de luz no láser que son utilizadas como lámparas halógenas, lámpara de arco de xenón, lámparas de halogenuros metálicos, lámpara de sodio recubiertas de fósforo, y sobre todo las fuentes de luz LED (Light – Emitting Diodes) las cuales son más baratas, pequeñas, livianas, y altamente flexibles (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).

Como ya se indicó, los fotosensibilizadores también pueden ser activados por luz visible de bajo poder a determinada longitud de onda. Los tejidos en el ser humano transmiten eficientemente la luz roja y según la longitud de onda podemos lograr diferentes resultados en la profundidad de la penetración de luz. A 630 o 700nm (longitud de onda) el fotosensibilizador activado puede penetrar 5mm o 15mm correspondientemente en el tejido. La activación del fotosensibilizador depende de la dosis total de luz, de la proporción de la dosis, profundidad de penetración de la luz y de la localización del área blanco (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).

La entrega de la fuente de luz varía según la localización y morfología de la lesión, es por esto, para que la luz sea uniforme debe existir un cálculo preciso de la dosis de luz a dar; es así, que en ciertos casos como en grandes y sólidos tumores, estos no pueden ser uniformemente iluminados, por la limitada profundidad de penetración de la luz (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).

El campo producido de luz debe ser uniforme ya que esto permite un cálculo más acertado de la dosis entregada. Catéteres de fibra óptica con difusores terminales cilíndricos o lentes son usados a menudo. La punta de la fibra puede tener varias formas, de esto depende que la luz se difunda en diferentes direcciones o en un solo foco. Los difusores de fibras de 1 - 5 cm están comercialmente disponibles. Los modernos sistemas de fibras ópticas pueden entregar y transmitir luz al blanco de la lesión con mayor precisión. Un tamaño y forma personalizada de la fibra óptica es necesario para lograr una homogénea iluminación. La luz debe penetrar lo más lejos posible en los tejidos y no producir efectos térmicos (Konopka et al., 2007), (Raghavendra et al., 2009).

3.4.4. AGENTE FOTOSENSIBILIZANTE

Existen como mil compuestos naturales y sintéticos con potencial fotosensibilizante; que provienen de la degradación de productos como la clorofila, poliacetilenos, quinonas, araquinonas, thiophenes y 9 – methozypsoralen (Konopka et al., 2007).

Un fotosensibilizante ideal no debe ser tóxico y debe activarse solo por iluminación; además de tener óptimas características foto-físicas, químicas y biológicas (Raghavendra et al., 2009).

Entre los fotosensibilizantes que pudieran ser utilizados en odontología para la eliminación de microorganismos tenemos como principales los tintes de phenothiazine como lo son el azul de metileno (MB) y el azul de toluidine O (TBO; tolonium chloride); además de otros agentes sensibilizantes como phthalocyanines, chlorines, porphyrinas y monoterpenes (Konopka et al., 2007).

La fotosensibilidad bacteriana parece relacionarse con la carga del agente sensibilizante, es así que los sensibilizantes neutrales y aniónicos son efectivos para inactivar bacterias Gram positivas; mientras que las bacterias Gram negativas son más resistentes a la inactivación por oxígeno singlete, ya que la estructura diferente de su membrana no permite la fácil penetración y difusión del fotosensibilizador en ella. La afinidad de las Gram negativas por los fotosensibilizadores de carga negativa puede reforzarse por unión del fotosensibilizador a una molécula catiónica o por el uso de agentes activadores de membrana (Tris - EDTA). La cubierta de lipopolisacáridos (LPS) de las Gram negativas les proporciona protección a los efectos letales de agentes exógenos en ambientes hostiles, ya que es una barrera física y química que el oxígeno y radicales hidroxilo deben penetrar para llegar a las dianas (Konopka et al., 2007), (Orellana, et al., n.d.).

3.4.4.1. PROPIEDADES ÓPTIMAS DE UN FOTOSENSIBILIZADOR

1. Alta selectividad
2. Baja toxicidad y rápida eliminación de la piel y epitelios
3. Buena absorción en los tejidos biológicos
4. Óptima proporción del rendimiento de la fluorescencia
5. Alto rendimiento en la producción de oxígeno singlete in vivo
6. Alta solubilidad en agua, soluciones inyectables y sustitutos de la sangre
7. Capacidad de almacenamiento y de aplicación de una luz estable (Raghavendra et al., 2009).

3.4.4.2. COLORACIÓN O TINCIÓN

Es el procedimiento en el cual una estructura celular o tisular adquiere una coloración o tinción bajo la acción de una sustancia colorante; con la finalidad de distinguirlas y facilitar su observación. Se denomina sustancia colorante a aquella que puede transferir su color a otro cuerpo (Montalvo, 2010).

Las tinciones son necesarias para posibilitar el estudio morfológico o estructural, o para identificar un determinado tipo de moléculas. Los colorantes son compuestos orgánicos y aromáticos conformados por un anillo de benceno (molécula orgánica sin color), por un grupo cromóforo (grupo químico que da color al benceno) y por un grupo auxocromo (permite la ionización del cromógeno para que se una a las fibras del tejido) (“Introducción a la biología”, n.d.).

Existen dos teorías que explican el proceso de la coloración, y son: física y química:

- T. Física: sustenta que la tinción es un proceso físico de adsorción, de tal manera que el colorante penetra en los espacios intra e intercelulares y se mantienen adheridos por la cohesión molecular, ej. Los Sudanes II o IV tiñen los lípidos por la facilidad de disolverse en ellos (Montalvo, 2010).
- T. Química: el tinte se une y se combina íntimamente a la estructura coloreable por la presencia de agrupaciones moleculares ácidas o básicas como es el caso de componentes celulares o tisulares que se unen a los cromógenos ácidos y básicos de los colorantes, dando lugar a sales insolubles. Según esta teoría los tintes se unen a los tejidos por enlaces iónicos o electrostáticos el cual ocurre cuando el colorante y la sustancia a teñir poseen diferentes cargas eléctricas y se atraen la una a la otra (Montalvo, 2010).

Los colorantes se pueden clasificar por su origen en: Naturales que se extraen de animales y vegetales; y en Artificiales o Sintéticos que son productos derivados de la destilación de la hulla o del carbón, se los conoce como *Colorantes Derivados de la Anilina* (Montalvo, 2010).

Los colorantes artificiales son sales o compuestos orgánicos, que han sufrido modificaciones de su anillo bencénico, lo que forma un nuevo compuesto con un color determinado. En general los colorantes aprovechan la propiedad de algunos componentes celulares de ionizarse para bases o ácidos; de tal manera que el tinte tenga la capacidad de

ligar a las macromoléculas celulares (proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos), lo que depende de la carga eléctrica de la porción cromogénica como de la carga del elemento a colorear (“Introducción a la Biología”, n.d.), (Montalvo, 2010), (“Técnicas de tinción”, n.d.), (Villena, Lopez-Fierro, Razquin, Fernandez, 2007).

Los colorantes sintéticos se clasifican en: ácidos, básicos, neutros e indiferentes (Montalvo, 2010).

- **Ácidos:** Son sales en las cuales su porción básica es incolora, mientras que el componente ácido posee color. Su porción cromogénica posee carga eléctrica negativa, por lo que se los llama Colorantes Aniónicos y tienen alta afinidad de unión a estructuras de carga positiva (+) (Montalvo, 2010), (“Introducción a la Biología”, n.d.).

También se los conoce como colorantes citoplasmáticos, ya que se unen al grupo químico localizado a un extremo de la cadena de aminoácidos que integran las proteínas citoplasmáticas, que está cargado positivamente. Las sustancias que son atraídas eléctricamente a los colorantes ácidos se las llama “acidófilas” y químicamente están constituidas por componentes básicos o alcalinos. Ejemplos: eosina, amarillo de metanilo, fucsina ácida, naranja G, azul de anilina, etc. (Montalvo, 2010), (“Introducción a la Biología”, n.d.), (“Técnicas de tinción”, n.d.), (Smith, n.d.).

- **Básicos:** Son sales cuya base posee color mientras su porción ácida es incolora. Poseen carga eléctrica positiva (grupo cromóforo es catiónico) por lo tanto se los llama Colorantes Catiónicos y por lo tanto poseen mayor afinidad por los constituyentes o componentes celulares cargados negativamente de las estructuras a colorear. También se

los denomina colorantes nucleares ya que presentan atracción por los ácidos nucleicos ADN y ARN. Las estructuras coloreadas por este tipo de tintes se las llama “Basófilas” y están conformadas por componentes ácidos (Montalvo, 2010)

El uso de estos colorantes es común para teñir bacterias, ya que estas presentan cargas negativas en su superficie que impide la penetración de la mayoría de los colorantes ácidos en las células. Ejemplos: azul de metileno, cristal violeta, safranina, hematoxilina, azul de toluidina, etc. (Montalvo, 2010).

- **Neutros:** Sales que tanto su porción básica como la ácida dan color. Tienen la propiedad de teñir de manera simultánea los componentes nucleares y citoplasmáticos de las células. Ejemplo: eosinato de azul de metileno (Montalvo, 2010).

- **Indiferentes:** No forman sales y son compuestos no iónicos ineficaces para la disociación electrolítica. Insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos como alcohol, grasas o lípidos; y a pesar que tienen color no son colorantes. Tiñen selectivamente los lípidos. Ejemplo: Sudán negro, sudán II, sudán IV, rojo oleoso (Montalvo, 2010).

3.4.4.3. AZUL DE METILENO

“El azul de metileno es un colorante que se presenta en forma de cristales o de polvo cristalino, tiene un color verde oscuro, con brillo bronceado. Es inodoro y estable al aire, sus

disoluciones en agua o en alcohol son de color azul profundo. Es fácilmente soluble en el agua y en cloroformo; también es moderadamente soluble en alcohol” (Bautista, 2011, p.6)

El azul de metileno (Methylene Blue) cuyas siglas en inglés son MB y su nombre científico Cloruro de Metiltionina; es un tinte o colorante, cuyo uso más importante es para tratar la enfermedad Metahemoglobinemia que es una forma oxidada de la hemoglobina en gran cantidad, que tiene mayor afinidad por el oxígeno lo que disminuye la capacidad de liberación del mismo en los tejidos, pudiendo llegar a la hipoxia tisular. La sangre arterial posee un color marrón chocolate. El tratamiento se da administrando por vía venosa el azul de metileno en bajas concentraciones, o por vía oral; el cual restaura el hierro de la hemoglobina para que transporte el oxígeno de manera normal. (Azul de Metileno, n.d.), (Wikipedia/azul de metileno). Además el azul de metileno es útil para detectar la Metaplasia intestinal por unirse a estas células (Oliveros, n.d.).

Existen otros usos del azul de metileno; el cual es usado para teñir ciertas partes del cuerpo antes o durante una cirugía; además es conocido por sus propiedades antisépticas (ejemplo: antiséptico urinario) y como cicatrizador interno. El MB es utilizado en laboratorio como colorante en la tinción de preparaciones a ser observadas en el microscopio y para teñir resultados. (Azul de Metileno, n.d.), (Wikipedia/azul de metileno).

Ciertas investigaciones han comprobado que el azul de metileno retrasa el deterioro de las funciones cognitivas de los enfermos de alzheimer. También se lo ha propuesto para el tratamiento contra la enfermedad de parkinson ya que posee un mecanismo que parece mejorar la función mitocondrial (Wikipedia/azul de metileno).

En acuicultura sirve el MB para tratar las infecciones fúngicas y parasitarias (protozoo *Ichthyophthirius multifiliis*) (Wikipedia/azul de metileno).

En la actualidad diversas investigaciones por sus propiedades lo han empleado en diferentes campos de la odontología, especialmente por su efecto antimicrobiano potencializado por la luz a determinada longitud de onda.

3.4.4.4. AZUL DE TOLUIDINA

El azul de toluidina es una sustancia colorante básica, derivada del aminotoluol (homóloga de la anilina derivada del toluol), y es utilizada en histología principalmente para tinción de núcleos. Presenta una coloración azul en suspensión, pero cuando se juntan a estructuras ricas en enlaces amínicos (heparina, colindroitín sulfatos, etc.) sus moléculas se tornan de un color rojo (metacromasia) debido a su propiedad metacromática (“Introducción a la Biología”, n.d.), (Wikipedia/azul de toluidina).

La propiedad metacromática, es la tinción en la cual un colorante a más de dar su color a una sustancia celular o tisular, tiñe de color distinto a otras estructuras, tal es el caso del azul de toluidina que tiñe los núcleos y estructuras basófilas de azul (colorante ortocromático), y al mismo tiempo tiñe otras estructuras tisulares como la mucina, matriz cartilaginosa, ácido hialurónico de color violeta o rosado (colorante metacromático). Esta propiedad depende del pH y de la naturaleza química de la sustancia tinturada (los ácidos nucleicos y algunos lípidos ácidos son ligeramente metacromáticos) (Montalvo, 2010), (“Introducción a la Biología”, n.d.), (“Técnicas de tinción”, n.d.).

Como colorante ortocromático se lo usa para colorear el tejido nervioso donde se tiñe la heterocromatina y los gránulos de Nissl (retículo endoplasmático rugoso de los somas neuronales, fibras nerviosas amielínicas y células de glía); también se lo utiliza para la tinción de cortes semifinos (0,5 – 5 μm) (“Técnicas de tinción”, n.d.).

El azul de toluidina se comporta como colorante metacromático con las estructuras ricas en proteoglicanos sulfatados (heparán sulfato) presentes en el cartílago joven y en los gránulos de células cebadas (“Técnicas de tinción”, n.d.).

“El azul de toluidina por su propiedad metacromática, tiñe el material nuclear de las lesiones malignas de un azul oscuro; pero no el de la mucosa normal, la cual apenas se pigmenta de un color azul suave; lo que ha sido observado en el cáncer orofaríngeo debido a que estas células poseen un mayor contenido de ácido nucleico. Incluso el azul de toluidina ha sido utilizado para el diagnóstico temprano de cáncer de esófago” (Oliveros, n.d.)

Muchos estudios demuestran que la aplicación del láser de baja potencia al azul de toluidina “O”, produce la eficaz eliminación de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Dörtbudak et al., 2002)

Propiedades de un Fotosensibilizador Ideal

No debe ser tóxico para el huésped pero si debe tener una toxicidad sobre las células blancas después de la iluminación; alto rendimiento cuántico de producción de O_2 ;

capacidad de absorber luz de longitud de onda de más de 600 nm con una máxima penetración en los tejidos; selectividad por el tejido diana; solubilidad en agua y eliminación rápida del organismo y de la piel evitando reacciones de fotosensibilidad (Konopka et al., 2007), (Orellana, n.d.).

Etapas claves de la Fotodinamia

- Administración del fármaco o colorante (vía intravenosa o tópica)
- Tiempo de espera para la retención del colorante en el tejido
- Irradiación de la zona, generalmente con láser
- Destrucción de las células diana
- Período de no exposición al sol mientras no se elimine el fármaco del organismo (Orellana, n.d.).

Ensayos con colorantes, que se encontraban separados por una capa de aire de las bacterias objetivo; han demostrado que el sensibilizador no necesita estar unido ni penetrar en la membrana para inactivar eficazmente la célula (Orellana, n.d.).

Aplicación de la Fototerapia en Odontología

En odontología la PDT se la aplica en:

- Tratamiento de cáncer oral
- Terapias contra infecciones bacterianas, micóticas, virales y parasitarias (con resultados eficaces)

- En Fototerapia Diagnóstica (Photodynamic diagnosis (PDD)) de la transformación maligna de lesiones orales.
- Además la PDT ha sido exitosa en el tratamiento de liquen plano oral, leucoplasia oral, y cáncer de cabeza y cuello (Konopka et al., 2007).

3.4.4.5. EFECTOS EN EL BIOFILM ORAL

Diferentes estudios revelan como la PDT es capaz de desorganizar el Biofilm oral constituido por colonias de microorganismos Gram positivos y Gram negativos, aerobios, anaerobios, hongos, levaduras, mycoplasmas, protozoarios y virus (Konopka et al., 2007), (Orellana, n.d.).

Konopka et al. (2007) citó el estudio de Deminova y Hamblin (2005) el cual concluye que la *Candida albicans* es un microorganismo que mostró resistencia a la PDT pese a ser Gram positivo, esto se atribuye a la presencia de una membrana nuclear y al largo tamaño de la célula. En tanto que en la investigación de Lee y cols (2004), consiguió su eliminación con una alta concentración de azul de toluidina (citado por Konopka et al., 2007).

La PDT también causa ruptura de la estructura del biofilm oral; es por esto que los estudios han buscado selectivos fotosensibilizadores, ya que algunos pueden eliminar floras bacterianas enteras, dejando susceptible al paciente a infecciones oportunistas (Konopka et al., 2007).

La PDT es muy aplicable a la cavidad oral por relativa facilidad de acceso a la iluminación (Konopka et al., 2007).

Clínicamente las reacciones de la fototerapia son citotoxicidad y vasculotoxicidad, esto depende del agente fotosensibilizante y de su aplicación ya sea intravenosa, ingesta oral, o la aplicación tópica (Konopka et al., 2007).

3.5. PATOGENIA

Múltiples investigaciones indican que la enfermedad periodontal es de naturaleza infecciosa, y los microorganismos localizados en la placa supra y subgingival constituyen su principal factor etiológico. Los microorganismos colonizan y se multiplican en la superficie dentaria a nivel del surco gingival para luego extenderse en dirección apical formando el biofilm bacteriano subgingival, el cual está conformado por más de 500 especies bacterianas, entre las de mayor prevalencia en la enfermedad periodontal son la *Porphyromona gingivalis*, *Tannerella forsythensis* (antes *bacteroides forsythus*) y el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; las que se ha demostrado juegan un papel significativo en la patogénesis de la periodontitis y formación de la bolsa periodontal, con destrucción del tejido conectivo circundante y del hueso alveolar. Otras especies participan en periodontitis agresivas como *Campylobacter*, *Prevotella Intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Peptoestreptococcus micros* (*Micromonas micros*) y varias Espiroquetas (Del Río, 2006).

El potencial patogénico de estos microorganismos se debe a los factores de virulencia; es decir como causan estas especies bucodentales la enfermedad y evaden los sistemas de defensa del huésped. Estas habilidades incluyen la capacidad de unirse a células epiteliales y a proteínas de la matriz extracelular, producir gran cantidad de proteasas, colagenasas, endotoxinas como lipopolisacáridos, ciertos mecanismos de resistencia antibiótica, producción de inhibidores quimiotácticos, leucotoxinas, citoquinas metabólicas tóxicas (H₂S, putrescinas), proteínas inmunosupresoras, etc. (Del Río, 2006), (Haffajee & Socransky, 2006).

Sin embargo la respuesta inmune frente a los microorganismos, desarrollada por el hospedero en gran parte es la responsable de los procesos inflamatorios causantes de la destrucción de los tejidos blandos y duros periodontales. El proceso inflamatorio da lugar a la activación de macrófagos e infiltración de leucocitos provenientes desde la sangre, a su vez la activación de estas células induce a otros cambios. Los monocitos – macrófagos, linfocitos y fibroblastos producen y secretan citoquinas pro-inflamatorias en respuesta a las bacterias, y juegan un papel muy importante en la inducción y posterior mantenimiento de la respuesta inflamatoria (Del Río, 2006), (Page, 1991).

Los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMNNs), macrófagos, fibroblastos, células epiteliales producen también enzimas proteolíticas como las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) en todo el organismo, su rol consiste en mantener la integridad de los tejidos conectivos y el metabolismo del hueso alveolar; pero pueden llegar a degradar la mayor parte de los componentes de la matriz extracelular y producir colapso y destrucción del hueso alveolar y del ligamento periodontal (Del Río, 2006), (Lamont et al., 1999).

En el estudio de Mäkelä y cols., realizado en los fluidos orales de pacientes sanos y pacientes con enfermedad periodontal, las enzimas proteolíticas MMP-9 y MMP-2 se presentaron en altos niveles en pacientes con periodontitis activa; mientras que en pacientes que fueron sometidos a tratamiento periodontal y en pacientes sanos su concentración bajaba notablemente. (Makela, Salo, Uitto, Larjava, 1994).

Como una barrera mecánica que evita el ingreso de microorganismos actúa el epitelio de unión, además funciona como un sensor de defensa antimicrobiana ya que genera y transmite señales entre las bacterias y las células subyacentes a los tejidos periodontales entre ellas las células inmunitarias. Sin embargo ciertos microorganismos como la *Porphyromona gingivalis* (*Pg*) si puede penetrar los tejidos periodontales y alojarse en ellos, alterando la fisiología normal de los mismos e incluso alterar la inmunidad innata del huésped, ya que esta es capaz de inhibir la secreción de IL-8 (interleucina - 8) por parte de las células epiteliales gingivales en los sitios de invasión gingival, que a su vez podría dar lugar a un efecto debilitante de la defensa innata del huésped, y en los sitios de constante invasión bacteriana el huésped no podría detectar la presencia de estos patógenos (no se activa a los leucocitos para eliminación bacteriana) dando lugar a un sobrecrecimiento bacteriano y por ende exacerbación de la periodontitis. Además la *Pg* puede directamente activar a los osteoclastos que a su vez estimularan la producción y liberación de prostaglandina E (PGE), citoquinas IL-1b y TNF-alfa (factor de necrosis tumoral) por parte de macrófagos-monocitos y fibroblastos; esto da lugar a la inhibición de la síntesis del colágeno por parte de los osteoblastos e induce la producción de MMPs por parte del huésped; es decir se inhibe la formación de hueso pero se estimula la destrucción del tejido óseo y conectivo (Del Río, 2006), (Lamont et al., 1999).

En la placa subgingival existe un incremento en el número de especies como la *Porphyromona gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*. Se ha visto que ciertos microorganismos superinfectantes como bacilos entéricos Gram negativo, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, levaduras, también pueden habitar en las bolsas periodontales (Del Río, 2006), (Lamont et al., 1999).

En zonas periodontales de individuos con formas graves de enfermedad periodontal se pudo constatar que las espiroquetas se encontraban en número y proporción más elevados en aquellas zonas más afectadas, comparándolos con individuos que presentaban formas leves de periodontitis (Haffajee et al., 2006). Igualmente algunos autores como Slots (2005) citado por Haffajee (2006), consideran un posible papel de los virus en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal, resultando asociados a la periodontitis los miembros de la familia *Herpesviridae*, poniendo especial énfasis en los herpes virus.

El *A. actinomycescomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, se los asocia a periodontitis crónicas progresivas con terapias periodontales no exitosas (Dörbudak et al., 2002); e incluso a estas mismas bacterias sumados el *Treponema denticola*, *Dialister pneumosintes*, bacilos anaerobios Gram (-), algunas bacterias Gram (+), bacilos entéricos, *Pseudomonas*; se les atribuye la etiología de la enfermedad periodontal agresiva (Dörbudak et al., 2002), (Page, 1991).

3.5.1 PORPHYROMONA GINGIVALIS

La *Porphyromona gingivalis* (*Pg*) es un bacilo Gram negativo del grupo cocobacilos, no móvil, anaerobio estricto, asacarolítico que produce colonias con pigmentaciones marrones, verdosas o negras en medio de cultivo agar sangre debido a la hemina que almacena en la superficie celular, poseen un diámetro de 0.5 – 0.8 um por 1.0 – 3.5 um de largo (Bascones, Caballero, 2002), (Díaz, Reyes, Puerta, Ahumado, Cabrales, Herrera, Simancas, 2010).

La *Porphyromona gingivales* es un microorganismo considerado como uno de los mayores causantes de enfermedad periodontal y una de las especies más asociadas a la enfermedad periodontal crónica y periodontitis agresiva, y generalmente es un colonizador tardío de la cavidad oral ya que requiere de microorganismos antecesores que creen condiciones ambientales necesarias para su proliferación, aportando sustratos para su crecimiento y reduciendo los niveles de oxígeno para que sobreviva esta anaerobia estricta (Kömerik, 2003), (Feres, Haffajee, Goncalves, Allard, Som, Smith, Goodson, Socransky, 1999).

La patogenia de la *Pg* se atribuye a sus posibles factores de virulencia como las proteinasas de cisteína (gingipainas), hemaglutininas, lipopolisacáridos (LPS) y fimbrias lo que ayuda a colonizar e invadir los tejidos del huésped. Además este patógeno puede producir severas infecciones extraorales como en planos faciales, mediastinales, cerebro y abscesos pulmonares, y se lo asocia al parto prematuro, bajo peso al nacer y a ciertas

enfermedades sistémicas como enfermedad cardíaca esclerótica, neumonía (Bascones et al., 2002), (Del Río, 2006).

El objetivo de muchos estudios es que, con la eliminación de los microorganismos periodontopatógenos, evitar la pérdida de hueso alveolar característica de la periodontitis (Kömerik et al., 2003).

Factores de Virulencia

Stewart, define a la virulencia bacteriana como la toxicidad que involucra tanto la capacidad del microbio para producir una toxina específica como los daños que provienen de los productos derivados del metabolismo, la producción de componentes que provocan las reacciones inflamatorias y la producción de componentes que pueden ser capaces de interferir con el crecimiento y reproducción del huésped (Holt et al., 2006).

Los factores de virulencia pueden tener varias funciones:

- Capacidad para inducir interacciones entre anfitrión y microbio (adherencia)
- Capacidad para invadir al huésped
- Capacidad para crecer en los confines de una célula anfitriona
- Capacidad para evadir las defensas del huésped e interferir con ellas (Holt et al., 2006).

A la *Pg* se la ha analizado in vitro revelando que posee diferentes componentes como lipopolisacáridos, proteínas de la membrana externa (proteasas), y productos metabólicos derivados; lo que indica que producen una importante serie de factores de

virulencia y poseen distintas moléculas y estructuras esenciales para la interacción con el hospedero. Una de estas capacidades es el poder adherirse a una diversidad de tejidos y células, invadirlas y multiplicarse (Holt et al., 2006).

Para la adherencia en la cavidad bucal la *Pg* emplea diversos componentes bacterianos como fimbrias, proteasas, hemaglutininas y lipopolisacáridos. Las principales son las fimbrias que participan en la interacción *Pg* – huésped, y *Pg* – otras bacterias; gracias a esto la *Pg* puede adherirse a la mucosa y superficies dentales, así como la congregación bacteriana como paso esencial para que varias especies bacterias bucodentales efectúen la colonización; además las fimbrias de la *Pg* también pueden unirse a ciertas proteínas ricas en prolina en la saliva humana. Esto es una adaptación evolutiva de la *Pg* para aumentar su potencial de colonización en el huésped (Holt et al., 2006).

Los LPS de la *Porphyromoma gingivalis* inducen la producción de IL-6 e IL-8 por parte de los fibroblastos en el ligamento periodontal, ya que estimula la respuesta inflamatoria del huésped por la producción de citoquinas. La *Pg* produce un gran número de enzimas (hidrolíticas, proteolíticas, lipolíticas), proteinasas que son activos contra las proteínas del huésped, además posee mecanismos para evadir las defensas del hospedero. Las actividades enzimáticas de la *Pg* se asocian a la proteinasa cisteína que le da ventajas metabólicas, ya que le proporciona la capacidad de utilizar largas proteínas (capaces de hidrolizar péptidos unidos) del huésped para su crecimiento y desarrollo y jugar un rol significativo en la progresión de la periodontitis (Del Río, 2006)

Como proteinasas encontramos a las colagenasas, aminopeptidasas, arginina (Arg-gingipaína), la lisina proteinasa; y son cisteínas proteinasas que han recibido un nombre

común que es “Gingipains”; las cuales son capaces de regular la permeabilidad vascular en el plasma humano y unirse directamente a bradiquininas; además son quimiotácticas para los polimorfonucleares; y son capaces de inactivar especies de oxígeno reactivas que son consideradas bactericidas naturales. Son capaces de degradar el colágeno, fibronectina, albúmina y laminina (Del Río, 2006), (Holt et al., 2006).

Además un tipo de proteinasas llamadas caseinolíticas son capaces de degradar el colágeno tipo I y IV, IgG, fibronectina y complemento C3, C4, C5 e inhiben la actividad bactericida de los PMN (Del Río, 2006).

La terapia básica convencional puede lograr una disminución temporal en los niveles subgingivales de la *Porphyromona gingivales* y de otros periodontopatógenos; sin embargo, generalmente estos microorganismos no pueden ser removidos en su mayoría de las bolsas periodontales únicamente con el raspado y alisado radicular. La terapia química antimicrobiana puede ser de gran ayuda en la eliminación de los periodontopatógenos y además de incrementar los beneficios obtenidos de la terapia mecánica. Sin embargo cada día son más comunes los casos de resistencia de las bacterias a los antimicrobianos, disminuyendo el grado de éxito de la terapia periodontal (Kömerik et al., 2003).

Las bacterias en general no desarrollan resistencia a la acción citotóxica del oxígeno singlete y radicales libres, es más, las bacterias que crecen en el biofilm causantes de enfermedad periodontal como la *Pg*, son susceptibles al PDT como lo expuso Bhatti et al. (1998) citado por Konopka et al. (2007).

3.6. ESTUDIOS DE FOTOTERAPIA APLICADOS A LA ELIMINACIÓN BACTERIANA

Cada vez son mayores los estudios de fototerapia aplicados al área odontológica; en este espacio se realizó la recopilación y resumen de algunos de ellos; donde podemos encontrar trabajos in vivo o in vitro, realizadas en humanos o en animales, con diferentes tipos de tintes o sustancias fotosensibilizantes, además de otras fuentes de luz alternativas; investigaciones cuyo fin es la eliminación de microorganismos causantes de enfermedades orales tales como periodontopatógenos, bacterias responsables de la caries, hongos y virus.

Cabe indicar que la bacteria más estudiada es la *Porphyromona gingivalis*, de igual manera los fotosensibilizadores más utilizados son el azul de toluidina y el azul de metileno; y como fuente de luz predilecta tenemos el láser de baja potencia.

ESTUDIOS EN SERES HUMANOS

El objetivo del estudio de Braun y colaboradores (2008); fue evaluar en corto tiempo los efectos de la terapia fotodinámica (PDT) antimicrobiana como coadyuvante en el tratamiento de periodontitis crónica, comparando la terapia convencional con o sin el uso de fototerapia, por medio de un ensayo clínico aleatorio. Veinte pacientes no fumadores con periodontitis crónica se sometieron a ultrasonido, raspado y alisado radicular y usando el diseño de boca dividida; dos cuadrantes fueron designados para el grupo de control y los dos cuadrantes restantes se designaron para el grupo de estudio que fue tratado adicionalmente con PDT. El tinte fotosensibilizador fue el cloruro de

fenotiazina (phenothiazine chloride) que por medio de una cánula fue irrigado en la bolsa periodontal, dejado por tres minutos y posteriormente lavado con agua para remover los excesos del tinte; y por medio de una fibra óptica como sonda se irradió la luz de un láser de diodo a una longitud de onda de 660nm, con una potencia de salida de 100mW, durante 10 segundos en cada sitio (dividido circunferencialmente en seis sitios por diente). Los resultados evaluados a la semana no registraron diferencia en el grupo de prueba como en el de control tanto en profundidad de sondaje, nivel de inserción y recesión gingival; a los 3 meses posterior al tratamiento el nivel de inserción, profundidad de sondaje, fluido del surco gingival y sangrado al sondaje disminuyó significativamente en el grupo de control, pero en el grupo de prueba su disminución fue aún mayor; sin embargo la recesión gingival se incrementó en los dos grupos sin diferencia entre ambos. Concluye el estudio, indicando que la PDT como coadyuvante a la terapia convencional brinda mejores resultados de éxito y puede disminuir la posibilidad de llegar a una terapia periodontal quirúrgica (Braun et al., 2008).

Tenemos el estudio de Sigusch y colaboradores (2010), los que buscan evaluar el efecto de la fototerapia sobre el *Fusobacterium nucleum*. Este estudio se realizó en pacientes entre 32 y 58 años de la Universidad de Jena diagnosticados con periodontitis crónica localizada los que fueron sometidos a un raspado y alisado radicular meticuloso, escogiendo después de 3 semanas a aquellos individuos detectados con este periodontopatógeno. En total eran 24 individuos los que fueron divididos en un grupo de tratamiento y otro de control, en este último solo se aplicó la sustancia fotosensibilizadora. Los parámetros a evaluar fueron índice de placa, presencia o ausencia de sangrado, enrojecimiento, profundidad de bolsa, recesión gingival y nivel de inserción. En el grupo de tratamiento se utilizó láser de diodo de baja potencia a una longitud de onda de 660nm,

con un poder de densidad de 60 mW/cm²; con un aplicador de fibra óptica de 0,6mm de diámetro ubicado en la bolsa periodontal. Este tratamiento fue aplicado en una sesión en todas las bolsas periodontales del paciente, dividiendo el diente en 6 partes, a las cuales se irradió por 10 sg cada una resultando un total de 1 minuto por diente; también la lengua fue dividida en 6 partes e irradiada cada una por 10 segundos. Previo a la irradiación en los sitios antes descritos; por medio de una cánula se aplicó el agente fotosensibilizante que fue una solución de cloruro de fenotiazina, dejando que actué durante 1 min., posteriormente se lavó el área con solución salina e inmediatamente se procedió a la irradiación. Como resultados se obtuvo que los individuos que recibieron fototerapia mostraron una significativa reducción de los parámetros antes descritos es decir una disminución relevante de los signos clínicos de inflamación periodontal y de la presencia del *Fusobacterium nucleaum* durante las 4 a 12 semanas de observación comparándolos con el grupo de control. Personas con enfermedades sistémicas, fumadores, y que recibieron terapia antimicrobiana en los últimos 6 meses fueron excluidos del estudio.

El uso único del láser ayuda a acelerar la cicatrización y a disminuir la inflamación después de la colocación de un implante. Stein y cols, investigaron si utilizando el láser de baja potencia en sinergia con un fotosensibilizante como la solución de cloruro de fenotiazina; existía un efecto de bioestimulación de las células osteoblásticas humanas. El estudio se realizó in vitro con varios tipos de células incluyendo las osteogénicas; a las que se aplicó primero el fotosensibilizante y posteriormente el láser; a las 24 horas se evaluó la viabilidad y diferenciación de las células tratadas y no tratadas. Se concluyó que la combinación en el tratamiento de cloruro de fenotiazina y láser blando no resulta en un sinergismo que estimula a los osteoblastos, pero tampoco existe evidencia de efectos

antagonistas en el crecimiento y diferenciación de los osteoblastos humanos (Stein, Koehn, Sutter, Schmidl, Lezaic, Wendtlandt, Watzinger, Turhani, 2009).

El examen histológico de la encía tratada con láser de baja potencia en la terapia periodontal, fue tratado en el estudio de Pejicic y Zivkovic (2007). Todos los pacientes fueron registrados en el departamento de Periodoncia y Medicina Oral de la Clínica Dentista de Nis. Treinta pacientes dieron su consentimiento informado escrito para participar en el estudio, en los que fueron incluidos pacientes que sufrían periodontitis crónica con marcados síntomas clínicos de inflamación gingival. El diagnóstico de la periodontitis fue hecho con un básico método de diagnóstico (anamnesis, examen clínico, índice gingival, índice de higiene oral, radiografías). Los pacientes oscilaban sobre los 60 años de edad. A los treinta pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica se los dividió en dos grupos: grupo experimental de 15 pacientes, fueron tratados con los métodos convencionales de detartraje ultrasónico, raspado y alisado radicular seguido por la fototerapia; en tanto el grupo control de 15 pacientes, fueron tratados solamente con detartraje ultrasónico y RAR. Posteriormente se haría la biopsia de la encía.

Al grupo experimental se aplicó en las bolsas periodontales la sustancia fotosensibilizadora (TBO); posteriormente se irradió con la luz láser a una longitud de onda de 670nm, cuya fibra óptica es de 3mm, a una potencia de 100-200mW/cm² y la salida de poder de 4-15mW. Después del RAR casi todos los días durante 5 días se irradió la encía por 2 min de ambos sitios (V y P). El haz tenía un ángulo de 90 grados en relación a la superficie de la encía y la punta del láser se ubicó a 2mm de la encía. Los resultados indican que en la terapia convencional la encía histológicamente mostraba una reducción del número de células inflamatorias y un estroma parcial de colagenización; mientras que

los cambios histológicos encontrados en la encía después de la terapia láser indicaron completa regeneración de los tejidos gingivales con poco infiltrado de células inflamatorias y una marcada homogenización de colágeno en los tejidos. En conclusión en base a los datos obtenidos se puede concluir que la terapia láser puede utilizarse como procedimiento adjunto en el tratamiento de periodontitis ya que es muy exitoso en la reducción de la inflamación de los tejidos gingivales (Pejcic & Zivkovic, 2007).

Sin embargo en el trabajo de Polansky y colaboradores (2009), la fototerapia no obtuvo resultados de mayor éxito. El estudio afirma que el uso combinado de detartraje ultrasónico más PDT no da lugar a una disminución extra de la profundidad de bolsa ni del sangrado al sondaje que el que se obtiene con la terapia convencional; de igual manera con respecto a la erradicación bacteriana no existe mayor diferencia entre estas dos terapias. Por lo tanto la PDT sin el uso conjunto de un tratamiento ultrasónico periodontal no es efectiva. Cincuenta y ocho personas con periodontitis crónica fueron incluidos en el estudio, cada sujeto presentaba un mínimo de 3 bolsas activas de 5mm o más, sangrado al sondaje y presencia de *Porphyromona gingivalis*. El grupo de control recibió ultrasonido supra y subgingival; mientras el grupo de estudio recibió ultrasonido supra y subgingival más fototerapia.

Los 58 pacientes recibieron instrucción de higiene oral 6 semanas antes del tratamiento y desbridamiento ultrasónico supragingival; los que se reforzaron a los 10, 42 y 90 días después del tratamiento. Los pacientes se escogieron al azar para designarse a cualquiera de estos dos grupos de estudio. Todos los individuos fueron tratados por el mismo operador (Polansky et al., 2009).

El grupo de control se trató con desbridamiento a alta potencia supra y subgingival en toda la boca (29 sujetos, 110 sitios). El grupo de estudio adicionalmente fue tratado con láser más TBO aplicado 3 min en los sitios, lavado con suero fisiológico e irradiado con un miniláser de diodo aplicado por un minuto en cada sitio (vestibular, lingual o palatino, mesial y distal) a 680 nm de longitud de onda y 75mW de potencia, (29 sujetos, 115 sitios) (Polansky et al., 2009).

El índice gingival, sangrado al sondaje, profundidad de bolsa, pérdida de inserción fueron reevaluados a los 90 días. Conclusión: la aplicación de un solo ciclo de PDT conjuntamente con el tratamiento ultrasónico periodontal, no logró resultados de mayor éxito comparándolo con el detartraje supra y subgingival como única terapia; ya que no existió una diferencia significativa de la reducción de la profundidad de bolsa ni de sangrado al sondaje entre los grupos. En el grupo de estudio se observó muerte bacteriana (*Pg*, *Tf*, *Td*) sin embargo no se observó efectos adicionales comparando con la terapia convencional sola. En este estudio se utilizó el sistema de fototerapia HELBO (véase Gráfico 1) que se lo promociona para tratamiento de periodontitis, periimplantitis y problemas endodónticos (Polansky et al., 2009).



Gráfico 1. SISTEMA DE TERAPIA FOTODINÁMICA HELBO

La investigación realizada en pacientes de la Escuela de Higiene Dental de Eastman Dental Hospital por Sarkar y Wilson (1993), fue realizada en 20 individuos (9 hombres y 11 mujeres) entre 20 y 61 años que presentaron periodontitis crónica con bolsas periodontales mínimo de 5mm y que evidencien radiográficamente pérdida ósea. El objetivo de este estudio es investigar el efecto producido por la fototerapia utilizando TBO y láser de baja potencia sobre los microorganismos resultantes de las muestras obtenidas de placa subgingival de pacientes con periodontitis crónica; es decir comprobar el comportamiento o susceptibilidad de los periodontopatógenos en la flora mixta compleja del biofilm; a diferencia de otras investigaciones realizadas en colonias puras de determinado microorganismo. Después de eliminar la placa supragingival; con un aditamento endodóntico con algodón de alginato de calcio, se recogió la muestra de placa subgingival de un solo sitio de cada paciente, la cual inmediatamente fue colocada en 0.5ml de solución pre-reducida Calgon-Ringers y transportada a laboratorio, iniciando su procesamiento a los 5 min después de ser tomada. De las muestras, el alginato de calcio fue eliminado en una solución de vortex-mixed, luego colocadas en platos en presencia o ausencia de 30 μ l (100 μ g/ml) o 50 μ g/ml de TBO e inmediatamente se las expuso a la luz del láser de Helium/Neon a un poder de 7.3mW por 30 segundos. Los resultados del estudio demuestran que no hay efecto del láser sobre las bacterias en ausencia del fotosensibilizador y que la combinación del tinte con el láser logra una significativa reducción de varios grupos y especies bacterianas: 91,1% para aerobios, 96,6% para anaerobios, 100% para anaerobios “pigmentados de negro” (*P. gingivalis* y *F. nucleatum*) y 94,2% para Streptococos. Concluyendo además que los resultados in vivo son muy similares a los resultados in vitro.

Dörtbudak et al. (2002), realizaron su trabajo en 30 pacientes que presentaban bolsas periodontales de más de 5mm y que no hayan recibido tratamiento periodontal mínimo 3 meses antes. Se procedió a colocar 100 ug/ml de TBO en la profundidad de las bolsas, luego se lavaba la bolsa con solución salina durante 1 minuto y el área tinturada era irradiada con un diodo láser a 75mW de potencia y con una longitud de onda de 690 nm por 1 minuto. Con unas puntas de papel colocadas 10 sg en la bolsa se procedió a recoger la muestra antes y 5 minutos después de la irradiación. En este estudio a pesar que existió una significativa reducción bacteriana, no se logró la eliminación completa, resultando más efectiva la eliminación de los microorganismos que se pigmentan en negro como la *P. gingivalis* y la *P. intermedia*.

ESTUDIOS IN VIVO EN ANIMALES

Bhatti et al. (1997), logra la eliminación del 100% de *Pg* en un estudio in Vitro; gracias a la aplicación de luz roja a 4.4 J, en combinación con el TBO al 25 ug/ml como fotosensibilizante (citado por Kömerik et al., 2003).

En el estudio de Kömerik, y cols. (2003); la *Pg* fue inoculada en los molares maxilares de ratas de laboratorio. Posteriormente a la aplicación del TBO, se procedió a la aplicación de luz de un láser diodo a una potencia de 0.1W, y una longitud de onda de 630 nm. El aplicador de fibra óptica se ubicó a 0.5 cm de la muestra. Se logró una significativa reducción del número de *Pg* viables; y aún más, al utilizar una cantidad de 1mg/ml de TBO a dosis de 6, 12, 24 y 48 J (con sus correspondientes tiempos de exposición 1, 2, 4 y 8 min) se logró en cualquier caso la erradicación completa de esta bacteria. A la examinación histológica, los tejidos no advirtieron ningún daño en sus estructuras. Al cabo de un tiempo

los animales fueron sacrificados, pudiendo constatar que en los sitios tratados con fototerapia existió una disminución en la pérdida de hueso alveolar comparado con el grupo de control.

Quin y colaboradores (2008), en su investigación buscan comparar la eficacia de la terapia fotodinámica versus la terapia periodontal convencional, para eliminar los signos de inflamación presentes en la periodontitis. El estudio se realizó en 16 ratas de laboratorio, colocando ligaduras en la región subgingival de molares maxilares de las 16 ratas durante 6 semanas, posteriormente se las retiró y se dividieron en dos grupos; el primero (grupo de control) recibió terapia básica convencional de detartraje ultrasónico, raspado y alisado radicular; con aplicación tópica de 0,5% de clorhexidina. El segundo grupo (grupo de estudio) recibió únicamente la terapia fotodinámica, es así que en los sitios con infección se procedió a colocar 1mg/ml de toluidina azul (polvo de azul de toluidina disuelto en solución salina estéril y posteriormente filtrado (membrana de 0.22um de medida de poros) y guardado en un medio oscuro) por medio de micropipetas; se dejó en reposo por 10 min y se procedió a irradiar la luz de un láser diodo a una longitud de onda de 635nm, con un poder de salida de 61mW y el diámetro de irradiación de 7mm obteniendo una dosis de luz de 159mW/cm² (12J/cm²) por 75 sg. Un mes posterior a los tratamientos se mataron a las ratas y se recogieron las muestras de los dos grupos demostrando que tanto la terapia convencional como la fototerapia obtuvieron gran efecto bactericida sobre el total de la flora bacteriana, y la sobrevivencia bacteriana después del tratamiento fue de 4% y 4,3% respectivamente. Al mes del tratamiento ciertos signos de inflamación que acompañan a la periodontitis tal como el enrojecimiento y edema desaparecieron. Se evaluó el índice de placa, índice gingival, sangrado al sondaje (este índice obtuvo muy bajos valores en ambos grupos) e infiltrado celular inflamatorio; y en ambos tratamientos se logró una significativa

reducción de estos valores con similares resultados terapéuticos; sin existir injurias detectables en los tejidos. La conclusión del presente estudio fue que la terapia fotodinámica podría ser efectiva en el tratamiento de la periodontitis in vivo teniendo un gran potencial de aplicación clínica.

Cargnelutti utilizó 29 ratas hembras para su estudio cuyo objetivo era evaluar la influencia de los efectos antimicrobianos de la PDT en el proceso periodontal inflamatorio. Antes de inducir la enfermedad periodontal 2 animales fueron sacrificados para observar las características histológicas normales; las 27 ratas restantes fueron sometidas a dieta rica en azúcares; y a los 30 días 2 animales más se sacrificaron para observar las características inflamatorias. Las 25 restantes se dividieron en 3 grupos: uno de control, el segundo de remoción mecánica (RM), y el tercero recibió PDT; realizándose el tratamiento en el 1er y 2do molares mandibulares. El grupo de PDT recibió el fotosensibilizador azul de metileno al 0,01% en la encía inflamada y posteriormente con el láser GaAlAs se irradia por un minuto y posteriormente por otro minuto más (660nm, 40mW). A las 24 horas de tratamiento el grupo con PDT mostró el mejor resultado de reducción del proceso inflamatorio comparado con los otros grupos. El grupo de control mantuvo el nivel de actividad de los osteoclastos, mientras que el grupo de RM y de PDT indicaron reducción de la actividad osteoclástica. A los 30 días del tratamiento se determinó que tanto en el grupo de RM como el de PDT los niveles de actividad osteoclástica seguían reducidos (Cargnelutti, 2007).

ESTUDIOS IN VITRO

En la investigación de Wilson y colaboradores (1993), las bacterias a estudio son: *P. gingivalis*, *F. nucleatum* y *A. actinomicetemcomitans* las cuales son mantenidos en agar sangre e incubadas en un medio anaerobio. Los fotosensibilizadores usados son azul de metileno 25ug/ml, azul de toluidina 25ug/ml, además de aluminium disulphonated phthalocyanine y dihaematoporphyrin ester igualmente a 25 ug/ml. El láser usado fue el de He/Ne con una salida de poder de 7,3mW, a una longitud de onda de 632,8nm, con un haz de luz de 1,3mm por 80 segundos. El láser utilizado conjuntamente con el azul de metileno y azul de toluidina resultaron efectivos en la eliminación de los tres organismos, mientras que el aluminium disulphonated phthalocyanine y dihaematoporphyrin ester fueron efectivos únicamente con la *P. gingivalis*. La exposición a la luz láser en ausencia del fotosensibilizante no causa significativo efecto en la viabilidad de las especies. Sin embargo el azul de toluidina en este estudio en concentración de 25 ug/ml en ausencia de la luz láser si causó una reducción de la viabilidad de estos microorganismos y esta fue más considerable para el *A. actinomicetemcomitans*.

Cada vez existen más bacterias resistentes a los antimicrobianos, tal es el caso del *Staphylococcus aureus* el cual puede ser resistente a la meticilina (MRSA) e igualmente a la teicoplanina, vancomicina, y muy rápidamente puede adquirir resistencia a otros nuevos antibióticos. En la investigación de Embleton y colaboradores, utilizaron una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente de a la meticilina y vancomicina; y como agente antimicrobiano que se activa con luz (fotosensibilizador) como alternativa a los antibióticos para el tratamiento de infecciones tópicas se utilizó al Estaño (IV) chlorin e6 (SnCe6), el cual fue vinculado al bacteriófago 75 del *S. aureus*. La muerte sustancial de

estas cepas resistentes a la meticilina y vancomicina pudo ser lograda con una concentración de 1.5 ug/ml SnCe6 conjugado o no con el bacteriófago 75 y a dosis de luz roja de 21 J/cm², en estas condiciones las células del huésped no son afectadas. La fotosensibilización lograda con el sensibilizador conjugado obtuvo mejores resultados en la eliminación de estas cepas comparando los resultados con el sensibilizador sin conjugar; así se demuestra que el bacteriófago puede ser usado para lograr un agente fotosensibilizador mejorado y selectivo para un microorganismo (Embleton et al., 2005)

ESTUDIOS EN IMPLANTES DENTALES

Estudios respaldan el buen pronóstico a largo plazo de la óseo-integración de los implantes, sin embargo diferentes factores etiológicos están asociados a fallas en los implantes tales como un mal manejo de la cirugía, carga prematura, carga excesiva, y por causas bacterianas que dan lugar a infecciones periimplantares por colonización de bacterias como el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and *Tannerella forsythia*. La periimplantitis es definida como un proceso inflamatorio que afecta a los tejidos circundantes y a la función del implante dental; resultando en la pérdida del soporte óseo. La descontaminación del implante se puede realizar por métodos mecánicos, químicos y por métodos físicos como lo es la fotodinamia utilizando un láser de bajo poder con la aplicación de una sustancia fotosensibilizadora como lo es el azul de toluidina O, para el tratamiento de enfermedad periodontal como de periimplantitis (Awad, Compagnoni, Theodoro, Moreira, Gouveia, Marcantonio, 2003), (Klokkevold, Newman, 2000), (Mombelli, Marxer, Gaberthüel, Grunder, , Lang, 1995).

Muchos estudios de fotosensibilidad se han realizado in vivo sobre implantes, tal es el caso de la investigación de Theodoro, Gouvea y colaboradores que consistía en evaluar la efectividad de la letalidad de los microorganismos en la fotosensibilización en el tratamiento de periimplantitis inducida en perros por ligaduras colocadas durante dos meses en 36 implantes; posteriormente se removieron las ligaduras quedando solamente 19 implantes óseointegrados, en los cuales se realizó un control de placa y enjuagues con clorhexidina al 0,12% durante 12 meses. Al cabo de ese tiempo se elevó un colgajo mucoperióstico, se retiró los abutments y con cureta plástica se realizó un cureteado sobre las superficies de los implantes. Se lavó con solución salina y se procedió a recoger muestras con puntas de papel antes y después del tratamiento en las superficies con el azul de toluidina. Con una fina jeringa fue inyectado en la zona periimplantar 100 ug/ml de azul de toluidina O (TBO) y dejada por un minuto, y subsecuentemente se irradió con un láser de diodo GaAlAs a una potencia de 50 mW, con una longitud de onda de 685 nm, a una energía de 4J de emisión de radiación láser que colimarán en un haz de 2 mm² de diámetro (densidad de energía de 200J/cm²). La luz del láser diodo fue aplicado 20 sg en cada superficie (vestibular, lingual, mesial, distal) es decir un total de 80 sg. Finalmente la segunda muestra fue obtenida. Como resultado se concluyó que la fotosensibilización causa una letal fotosensibilidad que resulta en la reducción del número de bacterias e incluso en muchas otras muestras con la eliminación completa de los periodontopatógenos, sin causar daño alguno en la superficie del implante (Awad et al., 2003).

Haas y colaboradores realizaron su estudio in vitro, el cual consistía en la eliminación bacteriana por fotosensibilización con el uso del láser de baja potencia a una longitud de onda de 995nm. En muestras de titanio puro de superficie maquinada con hidroxiapatita o plasma, se procedió a colocarlas dentro de cultivos incubados de

P. gingivalis, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*. Posteriormente se aplicó TBO y se irradió con el láser blando por 1min. Al examen microbiológico se concluyó que es efectiva la fotodinamia en la eliminación bacteriana (TBO y láser de baja potencia); mientras que únicamente con el uso de TBO, de láser o de solución salina por individual; no se obtenían resultados efectivos. En este estudio la PDT logró la eliminación completa de bacterias (Hass, Dörtbudak, Mensdorff-Pouilly, Mailath, 1997).

ESTUDIOS CON OTRAS FUENTES DE LUZ

La fotodinamia relativamente es una nueva modalidad de tratamiento; la cual primariamente fue usada para la destrucción de células tumorales con el poder de la energía de la luz láser, lo cual es logrado por la tinción de estas células con específicos tintes, lo que permite la selectiva absorción de la energía de la luz a cierta longitud de onda y su acumulación por las células tumorales en grandes cantidades que por las células normales. El mismo principio denominado letal fotosensibilización usando diferentes tintes (fotosensibilizadores), después fue aplicado para la muerte de diferentes especies de bacterias con significantes niveles de éxito (Krespi et al., 2005).

La letal fotosensibilización no es específica, y se ha demostrado su efectividad contra una variedad de células tales como las de los neoplasmas, hongos, virus, y bacterias; esto es resultado del daño en la membrana citoplasmática y en el ADN debido a la producción del oxígeno singlete, en la irradiación del tinte (Krespi et al., 2005).

La ventaja que la letal fotosensibilización no sea específica, es la muerte de todas las bacterias presentes en una infección mixta; sin embargo, según Krespi et al. (2005);

también las bacterias comensales e incluso los tejidos del huésped podrían verse afectados, especialmente por la alta densidad local de la potencia de salida de la fuente de luz láser. El objetivo del estudio de Krespi y colaboradores, fue encontrar una fuente de luz alternativa; por esto proponen el poder de densidad generado por una alta densidad de luz roja filtrada de una lámpara de luz halógena; la cual podría ser suficiente para activar ciertos tintes y causar la muerte bacteriana sin daños serios en las bacterias comensales o en la mucosa oral, además de eliminar o disminuir los potenciales riesgos asociados con el uso de fuentes de luz láser tal como el daño a los ojos. En este estudio in vitro se utilizó a la *Porphyromona gingivalis* y a la *Prevotella intermedia* las que fueron expuestas en sus cajas petri a la más alta intensidad de luz de la lámpara halógena (250W, a una longitud de onda de 650nm), con diferente duración de tiempo de exposición; el tinte utilizado fue el azul de metileno (MB) que igualmente se lo probó en diferentes concentraciones. La óptima fotosensibilización de estas bacterias (eliminación del 50% o más) se logró a los 5 minutos de exposición con una concentración de 0.05% de MB; o a los 20 min. de exposición en presencia de 0.025 o 0.01% de MB. La exposición durante 20 min de luz en ausencia de MB no fue efectiva, igualmente el MB en concentración de 0.025 y 0.001% no fue efectiva en ausencia de luz; sin embargo a 0.075 y 0.1% de MB si existió cierto efecto bactericida. Como conclusión del estudio in vitro se comprobó la letal fotosensibilización de dos comunes patógenos orales con la alta densidad de una lámpara de luz halógena en presencia del azul de metileno diluido (Krespi et al., 2005).

Matevski et al. (2003), utilizó en su trabajo la luz roja filtrada de una lámpara de xenón para activar al azul de toluidina O, para la eliminación de la *Porphyromona gingivalis*; además de laser He/Ne en el grupo de control. Se concluye que la fotosensibilidad causada por la luz de la lámpara de xenón es menos efectiva que la

causada por la luz láser en este estudio in vitro; sin embargo si existió un significativo efecto bactericida con este tipo de fuente de luz al ser utilizado a 10J/cm², 100mW/cm² y a una concentración de 12.5ug/ml de TBO.

ESTUDIOS CON OTROS MICROORGANISMOS BUCALES

La PDT en algunos estudios también es aplicada para la eliminación de bacterias cariogénicas, entre ellas encontramos al *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei* y *Actinomyces viscosus*. El estudio in vitro de Burns y colaboradores, pretendería que se pudiera en una lesión cariosa que ha llegado a dentina, disminuir la cantidad de tejido necesario a ser removido eliminando las bacterias cariogénicas mediante la fotosensibilidad. La eliminación de estas cuatro especies se logró a una concentración del tinte de 50ug/ml TBO, a una longitud de onda de 632,8nm, con un poder de salida de 7.3mW de luz láser He/Ne, a 33.6J/cm², 1.3mm de diámetro del haz de luz, con un tiempo de exposición de 60 segundos. Es así que es posible lograr la esterilización de la lesión cariosa antes que sea reparada (Burns, Wilson, Pearson, 1993).

El biofilm que se forma sobre la superficie dental consiste en una compleja comunidad microbiana embebida en una matriz de polímeros de bacterias y saliva; donde se encuentran microorganismos acidógenos que al metabolizar los carbohidratos forman los ácidos que provocan la desmineralización dental. Junqueira, utiliza la terapia fotodinámica para desorganizar a este biofilm y eliminar al *Streptococcus mutans* uno de los principales microorganismos responsables de la caries dental. El propósito de este estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano del azul de toluidina O disuelto en agua destilada (100mg/L), en combinación con el láser de He/Ne (longitud de onda de 632.8nm)

o por la luz LED (light-emitting diode) (longitud de onda de 620 – 638.8nm) utilizando densidades de energía entre 49 y 294 J/cm². El *S. mutans* fue eliminado en un 99% con ambos tipos de luz, ocurriendo predominantemente en las capas más externas del biofilm. No existió efecto bactericida con el uso de láser o LED sin la presencia del sensibilizante TBO (Junqueira, Goncalves, Brugnera, Hope, Pratten, 2005).

El herpes labial es una enfermedad infecto-contagiosa, causada por el herpes virus humano tipo 1 (HSV-1); sus síntomas son prurito, ardor y dolor local con la aparición de múltiples vesículas, resultando tanto la saliva contaminada como las secreciones de las vesículas en un vehículo de transmisión del virus. La reparación de las lesiones dura aproximadamente entre 10 a 14 días, después el virus retorna al ganglio trigémino en donde permanece latente. No hay cura para el HSV-1, y como alternativas de tratamiento existe la vidarabina o el aciclovir en forma de pomada o comprimidos; las vacunas para tratamiento o prevención todavía no son eficaces (Marotti, Correa, De Paula, 2008).

Es así que la PDT se propone como un tratamiento alternativo coadyuvante. En la investigación de Marotti et al. (2008) fue eficaz en el tratamiento de las vesículas del herpes simple disminuyendo el tiempo de recesión de la misma, además de la frecuencia de apareamiento de las lesiones, proporcionando satisfacción y confort al paciente incluso minutos después de ser aplicada la misma.

En la etapa de vesícula con una aguja estéril se procede a la punción y drenaje de la misma, después con un bolita de algodón se le aplica azul de metileno a 0,01% en la lesión, se espera 5 minutos, se aplica la luz láser (GaAlAs) 28 segundos por punto (685nm de longitud de onda, 100J/cm², 100mW de potencia, 2,8J de densidad de energía).

Posteriormente si se desea a las 24 horas se puede volver a aplicar el láser de baja potencia para reparación de la lesión. A las seis horas de la PDT se obtuvo una mejora en signos y síntomas; a los siete días ya había una completa resolución de la lesión es decir se aceleró el proceso de reparación de la lesión (Marotti et al., 2008).

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos clínicos antimicrobianos de la fototerapia; mediante el uso del láser de baja potencia combinado con el fotosensibilizador azul de metileno; como tratamiento coadyuvante de la terapia básica periodontal de raspado y alisado radicular.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar los índices periodontales antes de realizar la terapia básica periodontal y evaluarlos nuevamente después de tres meses
2. Evaluar los indicadores de enfermedad periodontal antes y después de 3 meses de realizado el tratamiento de fototerapia coadyuvante al tratamiento básico periodontal convencional.
3. Determinar cuál es el indicador de enfermedad periodontal que mayormente disminuyó en los dos grupos de estudio.
4. Evaluar cuál es el índice de enfermedad periodontal que obtuvo los resultados menos satisfactorios en los dos grupos de estudio.

5. Comparar los resultados obtenidos entre el tratamiento básico periodontal convencional versus la misma terapia básica periodontal combinada con el uso de la terapia fotodinámica

5. HIPÓTESIS

La fototerapia (láser más azul de metileno) como tratamiento coadyuvante de la terapia básica convencional de raspado y alisado radicular; mejora los resultados clínicos en el tratamiento de la enfermedad periodontal.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. MATERIALES

6.1.1. LOCALIZACIÓN

La presente investigación será realizada en la Provincia del Azuay, Cantón Cuenca, Ciudad Cuenca, Parroquia Bellavista, Sector de Lazareto. Dirección: Calle Zenón s/n y Vía a Lazareto.

6.1.2. CARACTERIZACIÓN DE LA ZONA DE TRABAJO

En la zona noreste de la ciudad de Cuenca, en el área geográfica correspondiente al Área de salud N° 2 de la Dirección Provincial de Salud del Azuay se encuentra ubicado el Hospital Mariano Estrella (véase Gráfico 2), al que compete la cobertura de las zonas de Lazareto, Sinincay y noreste del centro de la ciudad. En auto se encuentra a 10 minutos del centro de la ciudad, y a 20 minutos del Hospital Regional Vicente Corral Moscoso.



Gráfico 2. HOSPITAL MARIANO ESTRELLA

Es una zona geográfica rodeada de varios cerros y que posee algunas vertientes pequeñas de agua. Su clima es frío con una temperatura mínima de 4° C y una máxima de 28° C dependiendo de la época; con un promedio de temperatura de 12° C. Las precipitaciones en este sector son irregulares a lo largo del año. Las casas son construidas de ladrillo y cemento y cuentan generalmente con todos los servicios básicos de infraestructura sanitaria; sin embargo cuanto más se adentra a la comunidad estos servicios disminuyen y el material de construcción de las casas es adobe o mixtas (véase Gráfico 3).

Según el Ministerio de Salud Pública de la Provincia del Azuay la zona cuenta con una población de 8.482 habitantes. La población en su mayoría es de clase socio económica media-baja y baja; caracterizada por el oficio del tejido de sombreros de paja toquilla que es un negocio familiar que se ha transmitido en generaciones; otras familias se dedican a la agricultura y cuidado de animales sobre todo en las áreas más adentradas; la población restante se dedica a contratos privados.



Gráfico 3. SECTOR LAZARETO - SININCA Y

6.1.3. PERIODO DE INVESTIGACIÓN

El estudio se inicia en febrero del año 2012 y se ha programado su finalización en junio del mismo año.

6.1.4. RECURSOS A EMPLEAR

6.1.4.1. RECURSOS HUMANOS

Colaboran las dos odontólogas de planta del Hospital Mariano Estrella, quienes remitirán a mi persona los pacientes con diagnóstico tentativo de enfermedad periodontal.

6.1.4.2. Recursos Físicos o Materiales

- Infraestructura para la instalación del consultorio odontológico
- Equipo odontológico (sillón, trimodular, lámpara y succión)
- Instrumental básico de diagnóstico (espejo, explorador, pinza)
- Sonda periodontal Carolina del Norte (Hu-Friedy) 1 – 15mm
- Ultrasonido Scaler Cavitron K7 Model (SKL Corporation)
- Curetas específicas Gracey de la siguiente numeración: 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9-10, 11-12, 13-14 (Hu-Friedy)
- Kit de azul de metileno (MB) en forma líquida al 0,01% (Chimiolux – Hypofarma. Reg. M.S. 80466460001)
- Láser diodo de baja potencia de GaAlAs
- Insumos como: gasas, algodón, cánulas de succión.
- Computadora
- Impresora
- Hojas de papel bond A4
- Esferográficos, lápices

- Automóvil para transporte

6.1.5. UNIVERSO Y MUESTRA

6.1.5.1. UNIVERSO

Todos los pacientes que acuden al servicio de Odontología del Hospital Mariano Estrella de Cuenca

6.1.5.2. MUESTRA

Treinta individuos de género masculino o femenino, mayores de edad; con diagnóstico de enfermedad periodontal crónica, que asisten a la atención odontológica del Hospital Mariano Estrella de la ciudad de Cuenca.

6.2. MÉTODO

6.2.1. DISEÑO DE ESTUDIO

Es un estudio clínico, randomizado, controlado

ESTUDIO CLÍNICO: Investigaciones científicas diseñadas para evaluar nuevos métodos de detección, prevención, análisis o tratamiento y medicamentos para combatir enfermedades. Los estudios clínicos se realizan con pacientes que voluntariamente deciden participar. Se lo realiza únicamente cuando hay razones para creer que el tratamiento que se está estudiando puede ser beneficioso para el paciente

ESTUDIO RANDOMIZADO: Estudio en el cual la asignación a los grupos en comparación se efectúa al azar. Como consecuencia, cada sujeto tiene iguales probabilidades de ingresar a cada grupo.

ESTUDIO CONTROLADO: Experimento o ensayo clínico en el que se utilizan dos grupos con el fin de poder compararlos.

6.2.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con periodontitis crónica.
- Individuos mayores de 18 años y menores de 65 años.
- Pacientes que presenten en su boca al menos 3 dientes con bolsas periodontales activas de 5mm o más.

6.2.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Individuos menores de 18 años y mayores de 65 años.

- Pacientes fumadores.
- Pacientes con alguna enfermedad sistémica.
- Individuos que hayan tomado antibióticos tres meses antes.
- Pacientes que hayan recibido tratamiento periodontal en los últimos tres meses.
- Personas que recibieron medicación antiflogística (corticoides) o estimulante al sangrado por 6 meses.
- Bolsas periodontales que excedan los 8 mm.
- Alergia al azul de metileno.

6.2.4. GRUPOS DE ESTUDIO

Se forman dos grupos de estudio, de quince integrantes cada uno, los cuales son escogidos de manera aleatoria.

1. El primer grupo es el “Grupo de Control” el cual es tratado mediante Terapia Básica Periodontal Convencional: detartraje ultrasónico más raspado y alisado radicular (R.A.R.).

2. El segundo grupo se denominara “Grupo Experimental, Estudio o Test”, el cual será tratado con la misma Terapia Básica Periodontal Convencional; para posteriormente ser tratado con la Terapia Fotodinámica o Fototerapia mediante el uso del láser blando y de un fotosensibilizador en este caso el azul de metileno.

6.2.5. VARIABLES

- Profundidad de Sondaje (PS)
- Recesión Relativa (RR)
- Nivel de Inserción Relativa (NIR)
- Índice de Sangrado Marginal (ISM)
- Índice de Placa (IP)
- Índice Gingival (IG)

6.2.6. METODOLOGÍA

6.2.6.1. SELECCIÓN Y RECLUTAMIENTO DE PACIENTES



Gráfico 4. ENTRADA AL HOSPITAL MARIANO ESTRELLA

- Los pacientes que asistan a la atención odontológica en el Hospital Mariano Estrella de la ciudad de Cuenca, serán revisados clínicamente sus tejidos duros y blandos por el odontólogo de turno, el mismo que emitirá un diagnóstico (véase Gráfico 5).



Gráfico 5. ODONTOLOGÍA HOSPITAL MARIANO ESTRELLA

- Los pacientes diagnosticados con enfermedad periodontal crónica, serán remitidos a Periodoncia, a cargo de mi persona; en donde procederé con el respectivo examen clínico y llenado de la historia clínica; lo que permite recopilar información del paciente como datos generales, estado de salud actual, hábitos o disfunciones, alergias, enfermedad sistémica u oral, medicación; e incluso descubrir una posible patología adicional (véase Gráfico 6).



Gráfico 6. ANAMNESIS Y EXAMEN CLÍNICO

- Llenado del correspondiente Periodontograma.
- Se procede a dar un diagnóstico periodontal definitivo. En caso que los pacientes cumplan los requisitos de los criterios de inclusión y no se encuentren dentro de los criterios de exclusión, los individuos pueden formar parte de la investigación.
- Se procederá a la firma del consentimiento informado.

6.2.6.2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

- Los pacientes mayores de edad, que pueden formar parte de la presente investigación, son informados de las ventajas del presente estudio y de su nulo riesgo, mediante la presentación de artículos publicados en revistas reconocidas por sus temas de investigación, y por medio de gráficos o videos didácticos que expliquen de mejor manera los procedimientos a realizar.

- Las personas que por voluntad propia deseen participar en la investigación, se les pedirá que lean y firmen un “Consentimiento Informado” revisado y aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito antes de iniciar el estudio.

Es así que treinta pacientes dan su consentimiento informado escrito para participar en el estudio, en los que fueron incluidos pacientes que sufrían periodontitis crónica con marcados síntomas clínicos de inflamación gingival.

6.2.6.3. INSTRUCCIÓN DE HIGIENE ORAL



Gráfico 7. INSTRUCCIÓN Y MOTIVACIÓN DE HIGIENE ORAL

Todos los pacientes participantes reciben instrucción de higiene oral, que comprende de una charla educativa sobre la enfermedad periodontal sus causas, efectos, daños, tratamiento de la enfermedad periodontal y prevención (véase Gráfico 7).

Se indicará técnica de cepillado, elementos de higiene y como usarlos, según el caso.

Se intentará motivar al paciente para que sea metodoso en sus cuidados orales y los mantenga a largo plazo.

6.2.6.4. CONFORMACIÓN DE GRUPOS Y LLENADO DE ÍNDICES PERIODONTALES

- Se divide a los pacientes de manera aleatoria en dos grupos; cada uno conformado por quince participantes; a los que denominaremos: “Grupo de Control” y “Grupo Experimental o Estudio”.

- A los individuos de ambos grupos se procede a registrar los siguientes índices periodontales, antes de iniciar cualquier terapia:

- Índice de Placa (IP)
- Índice Gingival (IG)
- Índice de Sangrado Marginal (ISM)
- Profundidad de Sondaje (PS)
- Nivel de Inserción Relativa (NIR)
- Recesión Relativa (RR)

El registro de estos índices nos ayudará a determinar los cambios existentes en el proceso inflamatorio gingival, en cualquiera de las dos terapias.

6.2.6.5. GRUPO DE CONTROL

Los pacientes de este grupo reciben la terapia básica periodontal convencional:

- Detartraje supragingival y subgingival mediante el uso de un ultrasonido o cavitron de alta potencia.
- Seguidamente se ejecuta el raspado y alisado radicular correspondiente en los sitios afectados (véase Gráfico 8).



Gráfico 8. TÈRÀPIA BÀSICA PERIODONTAL CONVENCIONAL

6.2.6.6. GRUPO EXPERIMENTAL O DE ESTUDIO

Los pacientes reciben la terapia básica periodontal convencional al igual que el grupo de control, con la diferencia que adicionalmente se aplicara la terapia fotodinámica (PDT) como tratamiento coadyuvante.



Gráfico 9. LÁSER DIODO DE BAJA POTENCIA DE GaAlAs

Los parámetros que se utilizan para llevar a cabo la PDT en el presente estudio como: sustancia fotosensibilizadora, concentración del fotosensibilizador, fuente de luz (véase Gráfico 9), dosis, período de pre-irradiación, tiempo de irradiación; fueron elegidos por indicaciones de la fototerapia en la clínica odontológica y por la literatura de otros trabajos de investigación.

Para el experimento se escogió como sustancia fotosensibilizadora el azul de metileno (MB) (véase Gráfica 10); la misma que tiene que ser aplicada en las zonas

afectadas 48 horas después del RAR, ya que el fotosensibilizador al contacto con la sangre disminuye su poder de activación.



Gráfico 10. AZUL DE METILENO (Chimiolux)

Se agita por 20 segundos la ampolla de azul de metileno (Chimiolux - Hypofarma) antes de abrirla.

Por medio de una jeringa se succiona el MB que tiene una concentración de 0,01%.

Se requiere aislamiento relativo del área afectada.

Se aplica el MB en los sitios de bolsas periodontales activas, con cuidado para evitar sangrado (véase Gráfico 11).



Gráfico 11. APLICACIÓN SUBGINGIVAL DEL AZUL DE METILENO

Se deja el fotosensibilizador durante 5 minutos en la bolsa periodontal (período de pre-irradiación).

Con un láser diodo de GaAlAs (baja potencia) se procede a irradiar las zonas donde fue colocado el fotosensibilizador; cuyo haz de luz tiene una longitud de onda de 680 nm capaz de activar la acción antibacteriana del azul de metileno; a una potencia de 50mW y con una dosis de 4J/cm²; irradiando cada sitio durante 80sg. La fibra óptica del láser es de 3mm, el haz se coloca en un ángulo de 90 grados en relación a la superficie de la encía, con la punta del láser ubicada a 2 mm de ella (véase Gráfico 12).



Gráfico 12. APLICACIÓN LÁSER

Todos los pacientes de ambos grupos fueron tratados por el mismo operador.

A las doce semanas los indicadores de enfermedad periodontal usados en este estudio para ambos grupos, fueron nuevamente evaluados en cada paciente para obtener los resultados de la presente investigación.

6.3. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Obtenida la información esta será ingresada en una base de datos para su tabulación y ordenamiento. Se utilizaran los programas IBM. SPSS Statistics. Los resultados serán presentados en tablas y gráficos para su mejor comprensión. Se utiliza estadísticos descriptivos, análisis de frecuencia, regresiones lineales para obtener el cálculo de la media.

Para obtener la significancia estadística; los parámetros clínicos de PS, RR y NIR se analizaron con el test Anova Real y Prueba “t” de Student para dos muestras; mientras que para el análisis de los parámetros clínicos de ISM, IP, IG se utilizó la Prueba de los Signos.

6.4. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

La investigación ha sido revisada y aprobada por el Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito, que vela por la integridad de los participantes.

Se mantendrá la confidencialidad de la información personal de los pacientes que formen parte del estudio

La participación del paciente en el estudio es voluntaria, por lo tanto tiene la facultad de decidir participar o no en el presente estudio; sin que ello afecte su estado de paciente del Hospital Mariano Estrella.

El paciente puede retirarse de la investigación en cualquier momento; sin que existan sanciones ni pérdida de los beneficios como paciente del Hospital Mariano Estrella.

El individuo participante tiene derecho a recibir toda la información que considere necesaria.

7. RESULTADOS

Treinta individuos con enfermedad periodontal crónica iniciaron el presente estudio, los que fueron divididos en dos grupos: 15 pacientes en el grupo control (terapia básica periodontal convencional) y 15 pacientes en el grupo test llamado también experimental o estudio (terapia básica periodontal convencional + fototerapia).

Al cabo de 12 semanas los pacientes fueron 28 (15 en grupo control y 13 grupo en test). Tanto al inicio del estudio (antes del tratamiento) como a las 12 semanas fueron analizados ciertos indicadores de enfermedad periodontal que se describen a continuación; considerando para el análisis los valores de las medias y porcentajes según el caso de la variable.

En el grupo control existieron un total de 15 pacientes con 312 sitios analizados; mientras en el grupo de estudio fueron 13 pacientes con 306 sitios de análisis.

Profundidad de Sondaje (PS):

En el grupo control los datos iniciales revelan el **76,3%** de los sitios con enfermedad periodontal (EP) leve (238 sitios de 5mm de profundidad); **21,40%** con EP moderada (51 sitios de 6mm y 16 sitios de 7mm de profundidad); y **2,2%** de los sitios con EP severa (7 sitios de 8mm). Registrando una media de **5,33mm** del total de los sitios (Véase Tabla 1).

A los tres meses en el grupo control la PS disminuyó notablemente; es así que el **52,5%** fueron sitios con una profundidad de sondaje entre 1-3mm (164 sitios); mientras que el **27,6%** bolsas de 4mm de profundidad (86 sitios); **13,8%** de 5mm (43 sitios); **5,7%** de 6-7mm (18 sitios); y apenas el **0,3%** de 8mm de profundidad (1 sitio). La media del total de sitios analizados fue de **3,62mm** (Véase Tabla 1).

Tabla 1. PROFUNDIDAD DE SONDAJE - GRUPO CONTROL

GRUPO CONTROL					
PROFUNDIDAD DE SONDAJE ANTES			PROFUNDIDAD DE SONDAJE DESPUES 3 MESES		
En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido	En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido
5	238	76,3%	1	2	0,6%
6	51	16,3%	2	40	12,8%
7	16	5,1%	3	122	39,1%
8	7	2,2%	4	86	27,6%
Total	312	100%	5	43	13,8%
			6	12	3,8%
			7	6	1,9%
			8	1	0,3%
			Total	312	100%
MEDIA	5,33		MEDIA	3,62	
MINIMO	5		MINIMO	1	
MAXIMO	8		MAXIMO	8	
RANGO	3		RANGO	7	
DESV. TIPICA	0,679		DESV. TIPICA	1,156	

Los datos iniciales del grupo test indican que el **67,6%** (207 sitios de 5mm) de los sitios padecían EP leve; el **27,7%** EP moderada (85 sitios); y el **4,6%** EP severa (14 sitios); registrando una media de **5,52mm** (Véase Tabla 2).

La PS en el grupo de estudio a las 12 semanas disminuyó significativamente; es así que en el **62,1%** de los sitios registraron una profundidad de surco de 1-3mm (190 sitios); el **19,3%** fueron de 4mm de profundidad (59 sitios); el **10,1%** de 5mm (31 sitios); el **7,5%** de sitios con bolsas de 6-7mm (23 sitios) y el **1%** restante correspondía a bolsas

periodontales de 8mm (3 sitios). Se registró del total una media de **3,45mm** (Véase Tabla 2).

Tabla 2. PROFUNDIDAD DE SONDAJE - GRUPO EXPERIMENTAL

GRUPO EXPERIMENTAL					
PROFUNDIDAD DE SONDAJE ANTES			PROFUNDIDAD DE SONDAJE DESPUES 3 MESES		
En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido	En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido
5	207	67,6%	1	4	1,3%
6	54	17,6%	2	68	22,2%
7	31	10,1%	3	118	38,6%
8	14	4,6%	4	59	19,3%
Total	306	100%	5	31	10,1%
			6	14	4,6%
			7	9	2,9%
			8	3	1,0%
			Total	306	100%
MEDIA	5,52		MEDIA	3,45	
MINIMO	5		MINIMO	1	
MAXIMO	8		MAXIMO	8	
RANGO	3		RANGO	7	
DESV. TIPICA	0,854		DESV. TIPICA	1,343	

Al realizar la diferencia del total de las medias, entre el antes del tratamiento y después de tres meses; se obtuvo una mayor disminución de la PS en el grupo de estudio con la diferencia de **2,07mm**; mientras que en el grupo de control la diferencia fue de **1,71mm**.

Significancia Estadística: Mediante el test de Anova Real se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: Rechazar hipótesis nula si $F > 3,84$

Ha: Rechazar hipótesis alterna si $F < 3,84$ (no todas las medias son iguales)

En el Grupo Control: Debido a que $F=510,439$ ($510,439 > 3,84$), se debe rechazar la hipótesis nula. Se puede estar 95% seguro de que las medias de las medidas de la PS del antes y después de tres meses del tratamiento no son iguales; es decir la mejoría del tratamiento fue significativamente estadístico con respecto al antes y el después de los tres meses de tratamiento ($p < 0,05$) (véase Gráfico 13).

En el Grupo Experimental: $F=515,576$ ($515,576 > 3,84$). Se rechaza la hipótesis nula con el 95% de seguridad de que las medias no son iguales; por lo tanto el éxito del tratamiento fue estadísticamente significativo comparando el antes y después de tres meses del tratamiento en el grupo experimental ($p < 0,05$) (véase Gráfico 13).

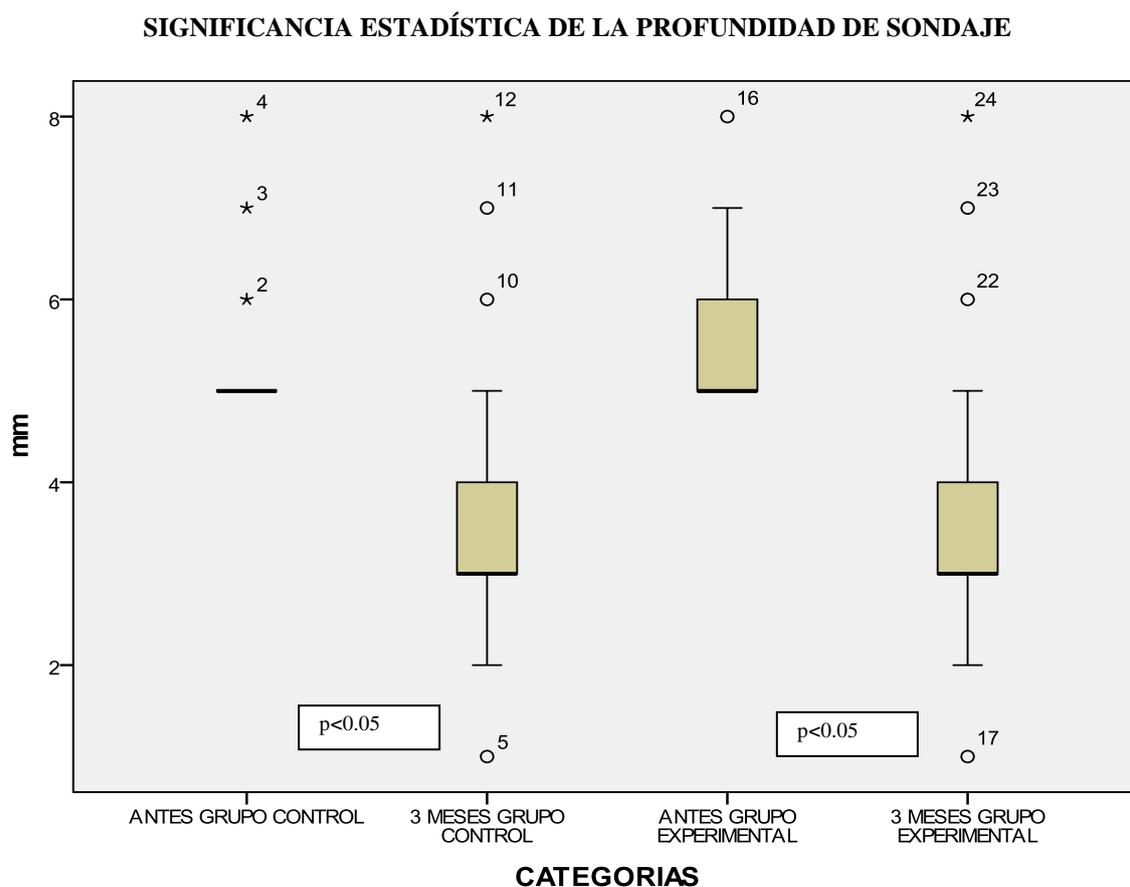


Gráfico 13. BOX-PLOT (MEDIAS, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS) DE LA PS ANTES Y DESPUÉS DE 3 MESES DEL TRATAMIENTO DEL G. CONTROL Y DEL G. EXPERIMENTAL

A pesar que los resultados de éxito obtenidos fueron mejores en el grupo experimental con respecto al grupo control; al analizar los valores mediante el test “t” se acepta la hipótesis nula, por lo que se puede estar el 95% seguro que las medias son iguales. Es decir las medidas no son estadísticamente significantes después de los tres meses desde el tratamiento entre el grupo control y el grupo experimental; $p=0,092$ ($0,092>0,05$).

Recesión Relativa (RR):

En la RR, al análisis de los tres meses posterior al tratamiento, existió una disminución del margen gingival tanto para el grupo control como para el grupo estudio, resultando ligeramente mayor esta disminución en el grupo control. Sin embargo no existieron cambios significativos en los resultados del inicio del tratamiento como a los tres meses de realizado el mismo; tanto en el grupo control como en el grupo test.

El grupo control al inicio del tratamiento obtuvo una media de **-0,17mm** mientras que el grupo test obtuvo una media de **-0,30mm**. Al cabo de tres meses la media del grupo control fue de **-0,78mm** (véase Tabla 3) y la media del grupo test fue de **-0,89mm** (véase Tabla 4). La diferencia de las medias da como resultado para el grupo control **0,61mm**; mientras que para el grupo experimental la diferencia de las medias es de **0,59mm**; resultando en que la disminución de la RR fue ligeramente mayor en el grupo control, por lo tanto una mayor recesión gingival.

Tabla 3. RECESIÓN RELATIVA - GRUPO CONTROL

GRUPO CONTROL					
MARGEN GINGIVAL o R.R. ANTES			MARGEN GINGIVAL o R.R. DESPUES 3 MESES		
En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido	En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido
-10	1	0,3%	-10	1	0,3%
-6	2	0,6%	-8	1	0,3%
-5	2	0,6%	-7	1	0,3%
-4	7	2,2%	-6	4	1,3%
-3	15	4,8%	-5	4	1,3%
-2	36	11,5%	-4	8	2,6%
-1	47	15,1%	-3	17	5,4%
0	85	27,2%	-2	60	19,2%
1	74	23,7%	-1	53	17,0%
2	38	12,2%	0	106	34,0%
3	2	0,6%	1	36	11,5%
5	2	0,6%	2	18	5,8%
6	1	0,3%	3	3	1,0%
Total	312	100%	Total	312	100%

MEDIA	-0,17
MINIMO	-10
MAXIMO	6
RANGO	16
DESV. TIPICA	1,776

MEDIA	-0,78
MINIMO	-10
MAXIMO	3
RANGO	13
DESV. TIPICA	1,771

Tabla 4. RECESIÓN RELATIVA - GRUPO EXPERIMENTAL

GRUPO EXPERIMENTAL					
MARGEN GINGIVAL o R.R. ANTES			MARGEN GINGIVAL o R.R. DESPUES 3 MESES		
En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido	En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido
-5	2	0,7%	-5	2	0,7%
-4	3	1,0%	-4	8	2,6%
-3	15	4,9%	-3	35	11,4%
-2	44	14,4%	-2	63	20,6%
-1	60	19,6%	-1	41	13,4%
0	92	30,1%	0	129	42,2%
1	61	19,9%	1	16	5,2%
2	26	8,5%	2	10	3,3%
3	3	1,0%	3	2	0,7%
Total	306	100%	Total	306	100%

MEDIA	-0,30
MINIMO	-5
MAXIMO	3
RANGO	8
DESV. TIPICA	1,44

MEDIA	-0,89
MINIMO	-5
MAXIMO	3
RANGO	8
DESV. TIPICA	1,424

Significancia Estadística: Mediante el test de Anova Real se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: Rechazar hipótesis nula si $F > 3,84$

Ha: Rechazar hipótesis alterna si $F < 3,84$ (no todas las medias son iguales)

En el Grupo Control: Debido a que $F = 18,781$ ($18,781 > 3,84$), se debe rechazar la hipótesis nula. Se puede estar 95% seguro de que las medidas de las medias de la RR del antes y después de tres meses del tratamiento no son iguales; es decir el tratamiento fue significativamente estadístico con respecto al antes y el después de los tres meses de tratamiento ($p < 0,05$) (véase Gráfico 14).

En el Grupo Experimental: $F = 25,529$ ($25,529 > 3,84$). Se rechaza la hipótesis nula con el 95% de seguridad de que las medias no son iguales; por lo tanto la diferencia entre el antes y después de los tres meses del tratamiento en el grupo experimental fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (véase Gráfico 14).

Sin embargo, al ser analizados los valores entre las medidas del grupo control y del grupo estudio mediante el test “t”; se acepta la hipótesis nula, por lo tanto se puede estar el 95% seguro que las medias de los dos grupos son iguales. Es decir las medidas no son estadísticamente significantes después de los tres meses desde el tratamiento entre el grupo control y el grupo experimental; $p = 0,395$ ($0,395 > 0,05$).

SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DE LA RECESIÓN RELATIVA

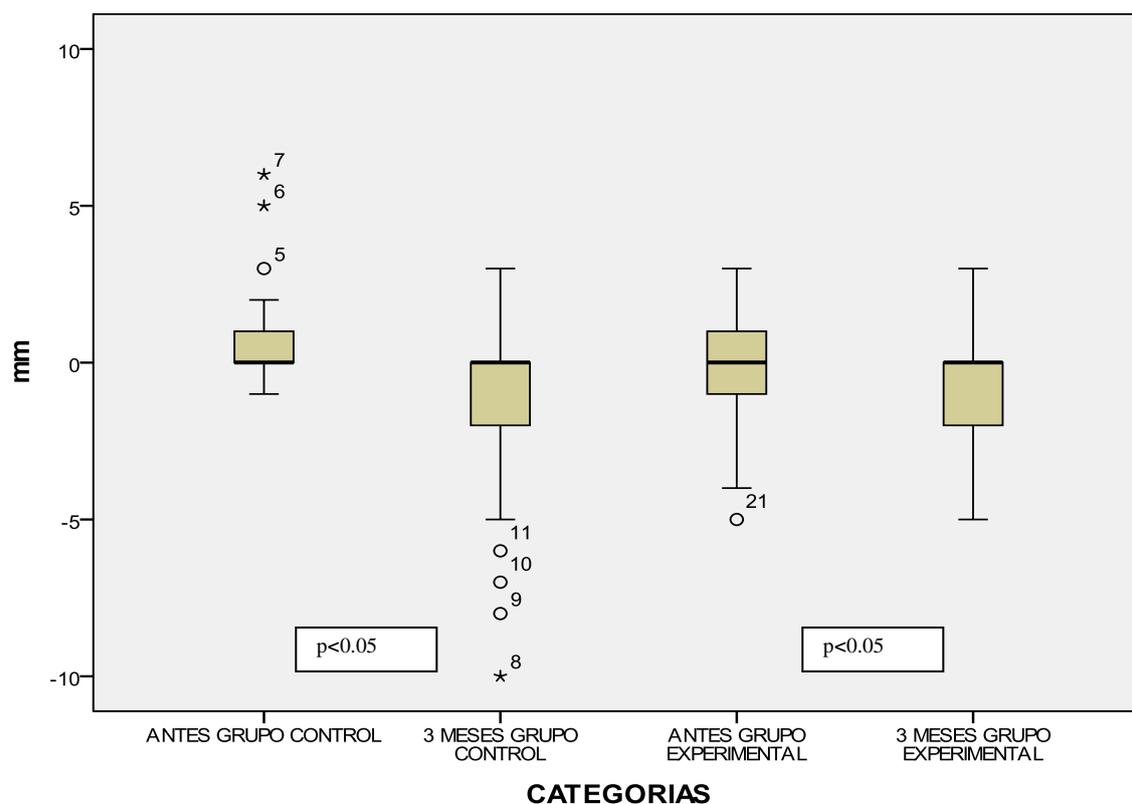


Gráfico 14. BOX-PLOT (MEDIAS, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS) DE LA RR ANTES Y DESPUÉS DE 3 MESES DEL TRATAMIENTO DEL G. CONTROL Y DEL G. EXPERIMENTAL

Nivel de Inserción Relativa (NIR):

Tanto en el grupo control como en el grupo estudio, decreció el NIR; resultando más notoria esta disminución en el grupo experimental (es decir existió un aumento en la inserción periodontal).

En el inicio del estudio la media del grupo control fue de **5,49mm**; mientras que la media del grupo test fue de **5,84mm**. A las doce semanas posteriores, las medias decrecieron a **4,41mm** para el grupo control (véase Tabla 5) y a **4,35mm** para el grupo test

(véase Tabla 6). La diferencia de las medias para el grupo control fue de **1,08mm**; en tanto que para el grupo experimental fue de **1,49mm**, por lo mismo menor NIR.

Tabla 5. NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA - GRUPO CONTROL

GRUPO CONTROL					
NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA ANTES			NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA DESPUES 3 MESES		
En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido	En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje válido
0	1	0,3%	0	3	1,0%
1	1	0,3%	1	8	2,6%
2	1	0,3%	2	36	11,5%
3	31	9,9%	3	66	21,2%
4	70	22,4%	4	63	20,2%
5	76	24,4%	5	59	18,9%
6	54	17,3%	6	34	10,9%
7	37	11,9%	7	22	7,1%
8	16	5,1%	8	9	2,9%
9	16	5,1%	9	8	2,6%
10	5	1,6%	10	2	0,6%
11	1	0,3%	14	1	0,3%
12	1	0,3%	15	1	0,3%
13	1	0,3%	Total	312	100%
16	1	0,3%			
Total	312	100%			

MEDIA	5,49
MINIMO	0
MAXIMO	16
RANGO	16
DESV. TIPICA	1,936

MEDIA	4,41
MINIMO	0
MAXIMO	15
RANGO	15
DESV. TIPICA	2,05

Tabla 6. NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA - GRUPO EXPERIMENTAL

GRUPO EXPERIMENTAL					
NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA ANTES			NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA DESPUES 3 MESES		
En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje	En mm.	Nº de Sitios	Porcentaje
2	1	0,3%	1	10	3,3%
3	19	6,2%	2	37	12,1%
4	52	17,0%	3	60	19,6%
5	73	23,9%	4	79	25,8%
6	60	19,6%	5	51	16,7%
7	47	15,4%	6	25	8,2%
8	32	10,5%	7	21	6,9%
9	14	4,6%	8	13	4,2%
10	6	2,0%	9	6	2,0%
11	1	0,3%	10	3	1,0%
12	1	0,3%	11	1	0,3%
Total	306	100%	Total	306	100%

MEDIA	5,84
MINIMO	2
MAXIMO	12
RANGO	10
DESV. TIPICA	1,735

MEDIA	4,35
MINIMO	1
MAXIMO	11
RANGO	10
DESV. TIPICA	1,912

Significancia Estadística: Mediante el test de Anova Real se plantea las siguientes hipótesis:

H₀: Rechazar hipótesis nula si $F > 3,84$

H_a: Rechazar hipótesis alterna si $F < 3,84$ (no todas las medias son iguales)

En el Grupo Control: Debido a que $F = 45,768$ ($45,768 > 3,84$), se debe rechazar la hipótesis nula. Se puede estar 95% seguro de que las medias de las medidas del NIR del antes y después de tres meses del tratamiento no son iguales; es decir la disminución de las medias entre el antes y el después de las doce semanas posterior al tratamiento fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (véase Gráfico 15).

En el Grupo Experimental: $F = 101,479$ ($101,479 > 3,84$). Se rechaza la hipótesis nula con el 95% de seguridad de que las medias no son iguales; es decir la disminución de los

valores de las medias fue estadísticamente significativo comparando el antes y después de tres meses del tratamiento en el grupo experimental ($p < 0,05$) (véase Gráfico 15).

SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DEL NIVEL DE INSERCIÓN RELATIVA

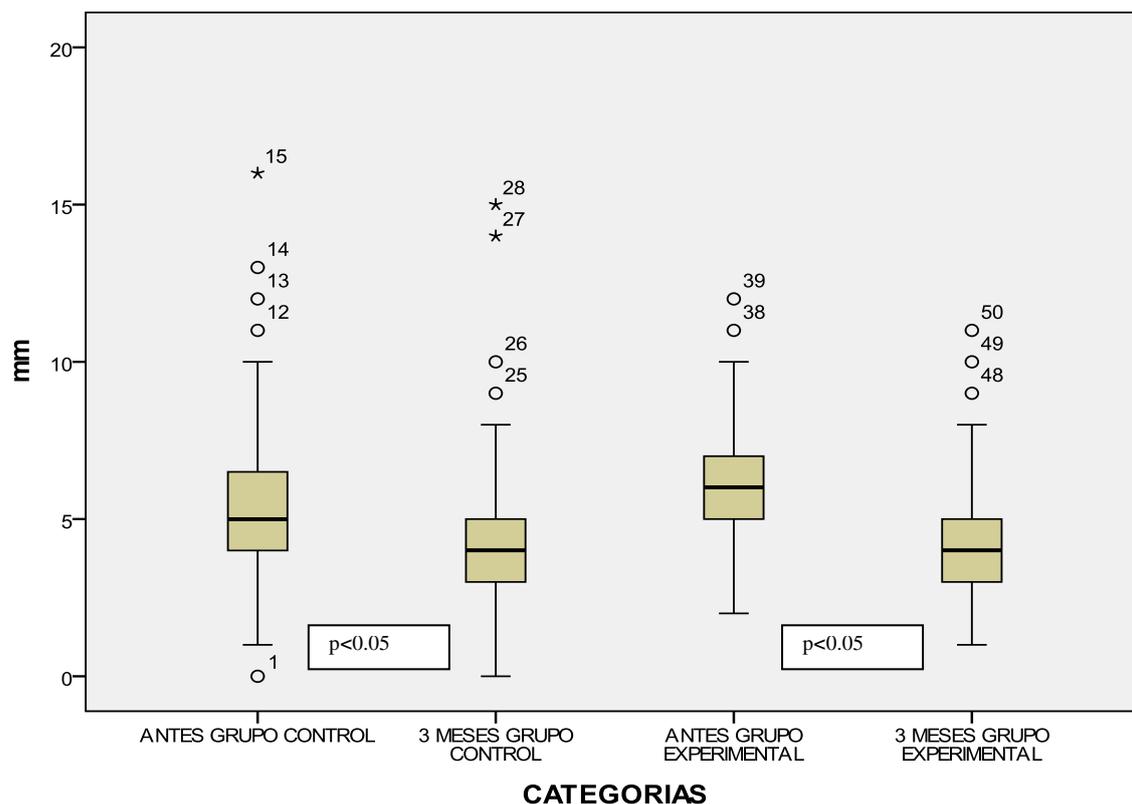


Gráfico 15. BOX-PLOT (MEDIAS, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS) DEL NIR ANTES Y DESPUÉS DE 3 MESES DEL TRATAMIENTO DEL G. CONTROL Y DEL G. EXPERIMENTAL

Aunque el valor de la media del NIR mayormente disminuyó en el grupo experimental con respecto al grupo control; al analizar los valores mediante el test “t” se acepta la hipótesis nula, por lo que se puede estar el 95% seguro que las medias son iguales. Es decir las medidas de las medias no son estadísticamente significantes después de los tres meses desde el tratamiento entre el grupo control y el grupo experimental; $p = 0,706$ ($0,706 > 0,05$).

Índice de Sangrado Marginal (ISM):

Al inicio del presente estudio se detectaron niveles muy altos de ISM positivos en ambos grupos del estudio; al final de la investigación la disminución de los positivos del ISM fue muy satisfactoria; resultando un mayor descenso del ISM en el G. experimental

De un total de 312 (100%) sitios examinados del grupo control, el **98,7%** (308 sitios) tuvieron valores positivos; mientras que para el grupo test de un total de 306 (100%) sitios el **98,4%** (301 sitios) resultaron positivos. A los tres meses los resultados del ISM bajaron a **51,6%** (161 sitios) positivos para el grupo control y a **43,8%** (134 sitios) positivos para el grupo test (véase Gráfico 16).

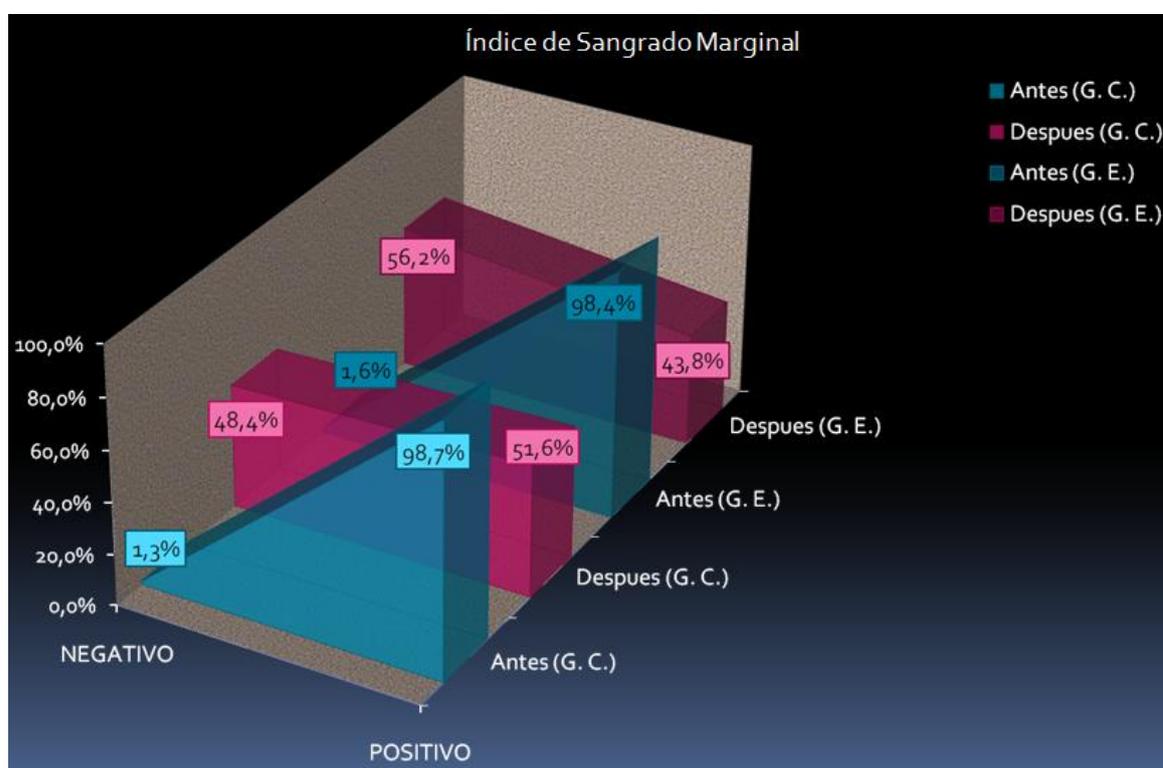


Gráfico 16. VALORES PORCENTUALES DEL ÍNDICE DE SANGRADO MARGINAL G. CONTROL - G. EXPERIMENTAL

Significancia Estadística: Con la Prueba del Chi-Cuadrado se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: $p > 0,05$ = Se acepta la hipótesis nula. Antes del tratamiento = 3 meses después del tratamiento.

Ha: $p < 0,05$ = Rechazar hipótesis nula. Antes del tratamiento \neq 3 meses después del tratamiento.

Se rechaza la hipótesis nula si el valor de Chi Cuadrado $> 3,84$

En el Grupo Control: El valor del Chi-Cuadrado calculado da una probabilidad y significancia inferior al 5%, $0,000 < 0,05$ ($p < 0,05$). El valor del Chi Cuadrado 185,488 está fuera de la región de aceptación de 3,841. Se rechaza la hipótesis nula y con los resultados obtenidos se demuestra el éxito del tratamiento.

En el Grupo Experimental: El valor del Chi-Cuadrado calculado da una probabilidad y significancia inferior a 5%, $0,000 < 0,05$ ($p < 0,05$). El valor del Chi Cuadrado 221,678 está fuera de la región de aceptación de 3,841. Se rechaza la hipótesis nula y con los resultados obtenidos se demuestra el éxito del tratamiento.

Para valorar si existe significancia estadística entre el G. control y el G. experimental a los tres meses posterior al tratamiento respectivo, se aplicó la Prueba del Signo.

Regla de decisión: Se rechaza la hipótesis nula (Ho) si $z < -1,96$ o si $z > 1,96$.

El G. experimental obtuvo mayores resultados de éxito, sin embargo al analizar los valores porcentuales mediante la Prueba del Signo se acepta la Ho: No hay diferencia entre los tratamientos con los siguientes valores $z = -1,63$ ($-1,63 > -1,96$). No existen valores estadísticamente significantes entre los dos tratamientos ($p > 0,05$).

Índice de Placa (IP):

El IP al inicio de la investigación registro niveles positivos muy altos; sin embargo al final del tratamiento estos resultados no disminuyeron significativamente. El grupo experimental obtuvo a los tres meses mayor cantidad de resultados negativos con respecto al grupo control.

Del 100% de sitios analizados; en el grupo control el **99,4%** presentaron resultados positivos de placa bacteriana, mientras en el grupo test del 100% de sitios examinados el **99%** fueron positivos. A los tres meses en ambos grupos estos valores disminuyeron a **96,1%** y a **89,7%** respectivamente (véase Gráfico 17).

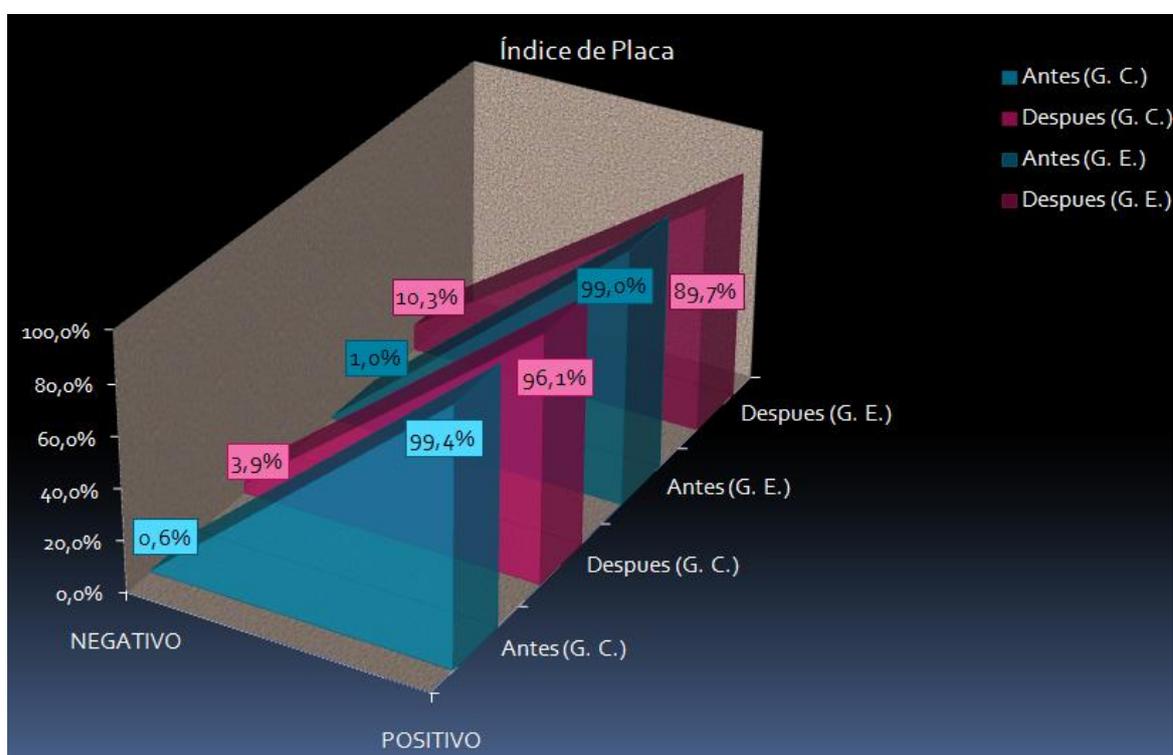


Gráfico 17. VALORES PORCENTUALES DEL ÍNDICE DE PLACA G. CONTROL - G. EXPERIMENTAL

Significancia Estadística: Con la Prueba del Chi-Cuadrado se plantea las siguientes hipótesis:

$H_0: p > 0,05$ = Se acepta la hipótesis nula. Antes del tratamiento = 3 meses después del tratamiento.

$H_a: p < 0,05$ = Rechazar hipótesis nula. Antes del tratamiento \neq 3 meses después del tratamiento.

Se rechaza la hipótesis nula si el valor de Chi Cuadrado $> 3,84$

En el Grupo Control: El valor del Chi-Cuadrado calculado da una probabilidad y significancia inferior al 5%, $0,000 < 0,05$ ($p < 0,05$). El valor del Chi Cuadrado 17,451 está fuera de la región de aceptación de 3,841. Se rechaza la hipótesis nula (H_0).

En el Grupo Experimental: El valor del Chi-Cuadrado calculado da una probabilidad y significancia inferior a 5%, $0,000 < 0,05$ ($p < 0,05$). El valor del Chi Cuadrado 50,913 está fuera de la región de aceptación de 3,841 siendo este valor el límite. Se rechaza la hipótesis nula (H_0).

La significancia estadística entre el grupo control y el grupo experimental a los tres meses posterior al tratamiento respectivo, fue obtenida con la aplicación de la Prueba del Signo.

Regla de decisión: Se rechaza la hipótesis nula (H_0) si $z < -1,96$ o si $z > 1,96$.

Al analizar los valores porcentuales mediante la Prueba del Signo se rechaza la H_0 : Por lo que se sustenta que hay diferencia entre los tratamientos con los siguientes valores $z = -3,19$ ($-3,19 < -1,96$). Los valores del grupo experimental son estadísticamente significantes ($p < 0,05$).

Índice Gingival (IG):

En ambos grupos, los resultados a los tres meses después de realizado el tratamiento demuestran una reducción del IG, siendo mayor este decrecimiento en el grupo experimental.

Al inicio del estudio la media del grupo control tiene un grado de **2.31**; y la media del grupo test es de un grado de **2.37**. Al finalizar las 12 semanas después del tratamiento el grupo control registra una media de **1.38** (véase Tabla 7) mientras la media del grupo experimental es de **1.18** (véase Tabla 8). La diferencia de las medias en el grupo control es de **0.93**; mientras que en el grupo test es de **1.19**; por lo tanto la mayor mejoría del IG se registra en el grupo experimental.

Tabla 7. **ÍNDICE GINGIVAL GRUPO CONTROL**

GRUPO CONTROL					
ÍNDICE GINGIVAL ANTES			ÍNDICE GINGIVAL DESPUES 3 MESES		
	Frecuencia	Porcentaje válido		Frecuencia	Porcentaje válido
0	6	1,9%	0	34	10,9%
1	15	4,8%	1	143	45,8%
2	165	52,9%	2	114	36,5%
3	126	40,4%	3	21	6,7%
Total	312	100%	Total	312	100%
MEDIA	2,31		MEDIA	1,38	

0	SALUD
1	LEVE INFLAMACIÓN
2	SANGRADO AL SONDAJE
3	SANGRADO Y ULCERACIÓN

Tabla 8. ÍNDICE GINGIVAL GRUPO EXPERIMENTAL

GRUPO EXPERIMENTAL					
ÍNDICE GINGIVAL ANTES			ÍNDICE GINGIVAL DESPUES 3 MESES		
	Nº de Sitios	Porcentaje válido		Nº de Sitios	Porcentaje válido
0	3	1,0%	0	72	23,5%
1	13	4,2%	1	112	36,6%
2	157	51,3%	2	117	38,2%
3	133	43,5%	3	5	1,6%
Total	306	100%	Total	306	100%
MEDIA	2,37		MEDIA	1,18	

0	SALUD
1	LEVE INFLAMACIÓN
2	SANGRADO AL SONDAJE
3	SANGRADO Y ULCERACIÓN

Significancia Estadística: Con la Prueba del Chi-Cuadrado se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: $p > 0,05$ = Se acepta la hipótesis nula. Antes del tratamiento = 3 meses después del tratamiento.

Ha: $p < 0,05$ = Rechazar hipótesis nula. Antes del tratamiento \neq 3 meses después del tratamiento.

Se rechaza la hipótesis nula si el valor de Chi Cuadrado $> 7,82$

En el Grupo Control: El valor del Chi-Cuadrado calculado da una probabilidad y significancia inferior al 5%, $0,000 < 0,05$ ($p < 0,05$). El valor del Chi Cuadrado 469,023 está fuera de la región de aceptación que es de 7,82 valor límite. Se rechaza la hipótesis nula y con los resultados obtenidos se demuestra el éxito del tratamiento.

En el Grupo Experimental: El valor del Chi-Cuadrado calculado da una probabilidad y significancia inferior a 5%, $0,000 < 0,05$ ($p < 0,05$). El valor del Chi

Cuadrado 548,709 está fuera de la región de aceptación de 7,82. Se rechaza la hipótesis nula y con los resultados obtenidos se demuestra el éxito del tratamiento.

Se aplica la Prueba del Signo para valorar la significancia estadística entre el grupo control y el grupo experimental a los tres meses del tratamiento respectivo.

Regla de decisión: Se rechaza la hipótesis nula (H_0) si $z < -1,96$ o si $z > 1,96$.

El análisis de los valores porcentuales mediante la Prueba del Signo rechaza la H_0 : Sí existe diferencia entre los tratamientos con los siguientes valores $z = -4,84$ ($-4,84 < -1,96$). Los valores del grupo experimental son estadísticamente significantes ($p < 0,05$) con respecto al G. control; lo que demuestra el éxito del tratamiento en el G. experimental.

SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA DEL ESTUDIO

Tabla 9. VALORES (MEDIA \bar{x}) DE LOS DATOS CLÍNICOS ANTES Y DESPUES DE TRES MESES DEL TRATAMIENTO DE EL G. CONTROL Y DE EL G. EXPERIMENTAL. ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO ENTRE LOS DOS GRUPOS

PARÁMETRO CLÍNICO	\bar{x} G. CONTROL		\bar{x} G. EXPERIMENTAL		VALOR DE "p" o VALOR DE "z"	TEST ESTADÍSTICO
	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES		
PS (mm)	5,33	3,62	5,52	3,45	$p > 0,05$ $0,092 > 0,05$	Análisis "t"
RR (mm)	-0,17	-0,78	-0,30	-0,89	$p > 0,05$ $0,39 > 0,05$	Análisis "t"
NIR (mm)	5,49	4,41	5,84	4,35	$p > 0,05$ $0,70 > 0,05$	Análisis "t"
ISM (%)	98,7	51,6	98,4	43,8	$z > -1,96$ $-1,63 > -1,96$	Prueba del Signo
IP (%)	99,4	96,1	99	89,7	$z < -1,96$ $-3,19 < -1,96$	Prueba del Signo
IG (#)	2,31	1,38	2,37	1,18	$z < -1,96$ $-4,84 < -1,96$	Prueba del Signo
* $p < 0,05$ = SIGNIFICANTEMENTE ESTADÍSTICO						
* $p > 0,05$ = NO SIGNIFICANTE						
* $z < -1,96$ o $z > 1,96$ = SIGNIFICANTEMENTE ESTADÍSTICO						
* $z > -1,96$ o $z < 1,96$ = NO SIGNIFICANTE						

8. DISCUSIÓN

Comparando los datos adquiridos al inicio de la investigación con los datos obtenidos a los tres meses posteriores al respectivo tratamiento; se muestran mejorías estadísticamente relevantes de los parámetros investigados para los dos grupos estudiados. El indicador de enfermedad periodontal que mayormente disminuyó en ambos grupos fue el ISM; mientras el de resultados de menor variación fue el de RR.

La aplicación de terapia fotodinámica como tratamiento adjunto a la terapia básica periodontal convencional en todos los parámetros clínicos obtuvo una mayor reducción de los signos clínicos de inflamación de la enfermedad periodontal; sin embargo no en todos los casos estos valores fueron estadísticamente significantes en comparación con los resultados de la terapia convencional.

Al aplicar un nivel de significancia del 95% de seguridad, para los indicadores de profundidad de sondaje, recesión relativa, nivel de inserción relativa e índice de sangrado marginal; los resultados de sus valores no son estadísticamente significantes entre ambos grupos de estudio. En tanto que el índice de placa y el índice gingival, sus valores en el grupo test fueron estadísticamente significantes en comparación con los del grupo control.

Braun y colaboradores (2008); en su estudio muy parecido al de esta investigación; al inicio del proyecto y a los 3 meses posteriores al tratamiento; los valores fueron: nivel de inserción (G.C: \bar{x} 7,56mm a \bar{x} 7,25mm. G.E: \bar{x} 7,63mm a \bar{x} 7,04mm), profundidad de

sondaje (G.C: \bar{x} 4,3mm a \bar{x} 3,7mm. G.E: \bar{x} 4,3mm a \bar{x} 3,6mm), fluido del surco gingival y sangrado al sondaje disminuyeron en el grupo de control, pero en el grupo de prueba su disminución fue aún mayor ($p < 0,05$). En cuanto a la recesión relativa (G.C: \bar{x} -0,26mm a \bar{x} -0,39mm. G.E: \bar{x} -0,35 a \bar{x} -0,46mm) también disminuyó en los dos grupos pero sin diferencia entre ambos ($p > 0,05$). Braun indica que la PDT como coadyuvante a la terapia convencional brinda mejores resultados de éxito y puede disminuir la posibilidad de llegar a una terapia periodontal quirúrgica.

Sigusch y colaboradores (2010), en su investigación in vivo realizada en personas, buscaba evaluar el efecto de la fototerapia sobre el *Fusobacterium nucleaum*. Los parámetros a evaluar fueron índice de placa ($p < 0,05$), índice de sangrado de sangrado ($p < 0,05$. G.C: 68% a 72%. G.E: 66% a 18%), enrojecimiento ($p < 0,05$), profundidad de bolsa ($p < 0,05$), recesión gingivales ($p > 0,05$. G.C. y G.E: \bar{x} 0,20mm a \bar{x} 0,20mm) y nivel de inserción ($p > 0,05$. G.C: \bar{x} 3,75mm a \bar{x} 3,55mm. G.E: \bar{x} 3,40mm a \bar{x} 2,45mm). Como resultados, se obtuvo que los individuos que recibieron la terapia convencional más fototerapia mostraron una significativa reducción de los parámetros antes descritos (excepto recesión gingival y nivel de inserción) es decir una disminución relevante de los signos clínicos de inflamación periodontal y de la presencia del *Fusobacterium nucleaum* durante las 4 a 12 semanas de observación comparándolos con el grupo que recibió únicamente la terapia básica periodontal.

Sin embargo en un estudio similar a los anteriores, realizado por Polansky y colaboradores (2009); con la variante que para la limpieza de las raíces solamente se realizó el detartraje con ultrasonido en ambos grupos de estudio; la fototerapia no obtuvo resultados de mayor éxito. El artículo afirma que en la reevaluación de los 90 días, el uso

combinado de detartraje ultrasónico más PDT no da lugar a una disminución extra de la profundidad de bolsa ($p>0,05$. G.C: $\bar{x}5,54\text{mm}$ a $\bar{x}4,51\text{mm}$. G.E: $\bar{x}5,79\text{mm}$ a $\bar{x}4,55\text{mm}$), del sangrado al sondaje ($p>0,05$. G.C: 100% a 59%. G.E: 100% a 47%), ni del nivel de inserción relativa ($p>0,05$. G.C: $\bar{x}6,59\text{mm}$ a $\bar{x}5,24\text{mm}$. G.E: $\bar{x}6,60\text{mm}$ a $\bar{x}5,25\text{mm}$); del que se obtiene con la terapia convencional realizada únicamente con el detartraje ultrasónico; así mismo en la erradicación bacteriana no existe mayor diferencia entre estas dos terapias. Por lo tanto la PDT sin el uso conjunto de un tratamiento ultrasónico periodontal no es efectiva, y no se observaron efectos adicionales comparando con la terapia convencional sola.

No hay efecto antibacteriano del láser en ausencia del fotosensibilizador en los periodontopatógenos de la flora mixta compleja del biofilm, según un estudio en individuos, basándose en muestras de placa subgingival. Mientras que la combinación de ambos eliminó el 91,1% para aerobios, 96,6% para anaerobios, 100% para anaerobios “pigmentados de negro” (*P. gingivalis* y *F. nucleatum*) y 94,2% para *Streptococcus*; Sarkar y Wilson (1993).

Otra investigación realizó el examen histológico de la encía tratada con terapia básica periodontal, y de la encía tratada con esta misma terapia más PDT; con la diferencia que los tejidos fueron irradiados casi todos los días durante 5 días. Los resultados mostraron que en la terapia convencional la encía histológicamente mostraba una reducción del número de células inflamatorias y un estroma parcial de colagenización; mientras en los casos con PDT existió completa regeneración de los tejidos gingivales con poco infiltrado de células inflamatorias y una marcada homogenización de colágeno en los tejidos. En conclusión la terapia láser puede utilizarse como procedimiento coadyuvante en

el tratamiento de periodontitis ya que es muy exitoso en la reducción de la inflamación de los tejidos gingivales (Pejcic & Zivkovic, 2007).

El tratamiento fotodinámico es un método adicional de gran valor sin efectos secundarios en el tratamiento de pacientes con enfermedad periodontal; en el cual se pueden eliminar a las bacterias y sus metabolitos. A pesar de una significativa reducción bacteriana puede ser que no se logre su eliminación completa, sin embargo resulta más efectiva la eliminación de los microorganismos que se pigmentan de negro; según el artículo de Dörtbudak et al. (2002).

Kömerik, y cols. (2003); en su estudio in vivo realizado en ratas; no utilizó terapia básica periodontal. La PDT, logró la eliminación completa de la *Pg*; a la examinación histológica no existió ningún daño en las estructuras de los tejidos; y se observó una disminución en la pérdida de hueso alveolar comparando con el grupo de control en el cual se irradia sin usar fotosensibilizador.

En la investigación de Quin y colaboradores (2008) in vivo realizado en ratas; se buscó comparar la PDT versus la terapia convencional. En las dos terapias existió un gran efecto bactericida, y el enrojecimiento y edema desaparecieron al mes. Ambas terapias lograron similares resultados terapéuticos sin injurias detectables en los tejidos.

Cargnelutti (2007); al comparar las terapias de remoción mecánica versus la PDT; concluyó en su estudio que los dos métodos después de cada tratamiento y a los 30 días lograron la reducción de los niveles de actividad osteoclástica.

Krespi et al. 2005; advierte que la fototerapia al no ser específica también pudiera afectar a bacterias comensales y a los tejidos del huésped; por lo que en su estudio propone fuentes de luz alternativas como lo es la luz halógena.

Además cepas resistentes a antibióticos como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y vancomicina; la fototerapia las puede eliminar (Embleton et al. 2005).

La fototerapia en diversos estudios a dado resultados muy satisfactorios en la eliminación de periodontopatogenos en casos de periimplantitis, en muchos casos logrando la erradicación bacteriana, sin causar daño alguno en la superficie del implante (Awad et al. 2003), (Klokkevold, Newman, 2000).

La fototerapia ha demostrado su efectividad contra una variedad de células tales como las de los neoplasmas, hongos, virus, y bacterias (Krespi et al. 2005); bacterias cariogénicas (*Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei* y *Actinomyces viscosus*) (Burns, Wilson, Pearson, 1993); y a logrado mejorar los signos y síntomas, y acelerar el proceso de reparación de la lesión causada por el herpes virus humano tipo 1 (HSV-1) (Marotti et al. 2008).

9. CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación demuestran que el método de la terapia fotodinámica como tratamiento coadyuvante a la terapia básica periodontal convencional, logra disminuir aún más los signos clínicos de inflamación de la enfermedad periodontal (índices de enfermedad periodontal) que si fuera aplicada sola la terapia básica periodontal convencional como único tratamiento de la enfermedad periodontal; sin embargo los resultados no fueron estadísticamente significantes entre los dos grupos de estudio con respecto a la profundidad de sondaje, recesión relativa, nivel de inserción relativa e índice de sangrado marginal; logrando una real significancia en sus resultados la terapia convencional adjunta a la PDT en los indicadores de índice de placa e índice gingival.

Podemos predecir que se potencia el efecto clínico antimicrobiano al combinar estas dos terapias; eliminando las bacterias periodontopatógenas específicas. Se mejora los resultados clínicos en el tratamiento de la enfermedad periodontal.

10. LIMITANTES Y RECOMENDACIONES

La gran limitante en el presente estudio fue la parte económica de los pacientes y la falta de cultura en salud oral ya que todavía se mantiene el pensamiento de extracción dental antes que la opción de prevención o rehabilitación bucal. Es así, que probablemente en grupos con una mejor cultura preventiva y rehabilitadora en su salud general; los resultados podrían variar.

Además se recomienda:

- Realizar el estudio en una muestra mayor de individuos.
- La terapia fotodinámica podría aplicarse en estudios realizados sobre implantes o en cirugía periodontal regenerativa.
- Realizar un estudio de fototerapia con otras fuentes de luz alternativas y/o diferentes agentes fotosensibilizantes.
- Evaluar los resultados clínicos de los índices de enfermedad periodontal al mes y a los tres meses del estudio.

11. BIBLIOGRAFIA

Awad, J., Compagnoni, M., Theodoro, L., Moreira, R., Gouvea, V. and Marcantonio, E. (2003). Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. *Journal of Oral Science*, Vol. 45, No. 1, 17-23

Azul de Metileno. Obtenido el 28 de agosto del 2012. Asociacion de Anestesia Analgesia y Dolor del Oeste Bonarense.

<http://www.aadob.com.ar/Pagina%20Web/popups/AZUL%20DE%20METILENO.html>

Bascones, A., Caballero, A. (2002). Actinobacillus Actinomycetemcomitans y Porphyromona Gingivalis como principales patógenos periodontales. *Revista Avances*; Vol 12, N° 2: 69 - 75

Bautista, L. (Nov. 2011). *Degradación de Colorantes (Azul de Metileno) por Métodos Electroquímicos*. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana.

Bhatti, M., MacRobert, A., Henderson, B., Shepherd, P., Cridland, J. and Wilson, M. (Oct. 2000). Antibody-Target Lethal Photosensitization of Porphyromona gingivalis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, p 2615-2618. Vol. 44, No. 10

Braun, A., Dehn, C., Krause, F., Jepsen, S. (2008). Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*; 35: 877-884

Burns, T., Wilson, M. and Pearson, G.J. (1993). Sensitisation of cariogenic bacteria to killing by light from a helium-neon laser. *J. Med. Microbiol.* Vol. 38, 401-405

Cargnelutti, T. (2007). *Estudo Comparativo da Influencia da Terapia Fotodinamica Antimicrobiana e Remocao Mecanica de Biofilme no Processo Inflamatorio Periodontal Induzido em Hamsters*. Tesis de Grado. Sao Paulo.

Committee on Research, Science and Therapy. (1996). Systemic antibiotics in Periodontics. *J. Periodontol* 67: 831-838

Dahlén, G., Manji, F., Baelum, V., Ferjerskov, O. (1989). Black-pigmented Bacteroides species and Actinobacillus actinomycetemcomitans in subgingival plaque of adult Kenyans. *J Clin Periodontol* 16: 305-310

Del Río, P. (2006). *Actividad Biocida de un Propolis Chileno frente a Porphyromona gingivalis: estudio in vitro*. Tesis de Grado. Facultad de Odontología. Universidad de Chile, Santiago-Chile.

Díaz, A., Reyes, R., Puerta, L., Ahumedo, M., Cabrales, R., Herrera, A., Simancas, M. (2010). Periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* y su relación con la expresión de *quorum sensing*. (Versión electrónica). *Revista Cubana de Estomatología*; 47 (4) 404 – 416

Dörtbudak, O., Haas, R., Bernhart, T., Matejka, M. (2002). Photodynamic Therapy for Bacterial Reduction of Periodontal Microorganisms. *J Oral Laser Applications*, 1: 115-118

Embleton, M.L., Nair, S.P., Heywood, W., Menon, D.C., Cookson, B.D. and Wilson, M. (Sep 2005). Development of a Novel Targeting System for Lethal Photosensitization of Antibiotic-Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol 49, No. 9, p. 3690-3696

Feres, M., Haffajee, A.D., Goncalves, C., Allard, K.A., Som, S., Smith, C., Goodson, J.M. and Socransky, S.S. (1999). Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections II. Effect on antibiotic resistance of subgingival species. *J. Clin. Periodontol*, 26:784-792

Haffajee, A. D., Socransky, S.S. (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000* 5: 78-111

Haffajee, A. & Socransky, S. (2006). Microbiología de las enfermedades periodontales: introducción. *Periodontology 2000 (Ed Esp)*, Vol. 12, 9 – 12

Haas, R., Dörtbudak, O., Mensdorff – Pouilly, N., Mailath, G. (1997). Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser. *Clin Oral Implants Res*; 8:249-254

Holt, S. y Ebersole, J. (2006). *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, y *Tannerella forsythia*: el complejo rojo, un prototipo de consorcio patógeno polibacteriano en la periodontitis. *Periodontology 2000 (Ed. Esp)*, Vol. 12, 72 – 122

Introducción a la biología molecular y celular. TP7 Microscopía óptica e histología. (n.d.). Obtenido el 20 de junio del 2011. Universidad Nacional de Quilmes.
<http://ibcmunq.files.wordpress.com/2010/03/tp7.pdf>

Junqueira, I. C., Goncalves, R. B., Brugnera, Jr. A., Hope, C. K and Pratten, J. (2005). Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an *in vitro* study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 324-330

Klokkevold, P.R., Newman, M.G. (2000). Current status of dental implants: a periodontal perspective. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 15, 56-65

Kömerik, N., Nakanishi, H., MacRobert, A. J., Henderson, B., Speight, P., and Wilson, M. (2003). In Vivo Killing of *Porphyromonas gingivalis* by Toluidine Blue - Mediated Photosensitization in an Animal Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47 (3), 932-940.

Konopka, K. & Goslinski, (2007). T. Photodynamic Therapy in Dentistry. *Journal of Dental Research* 86 (8): 694-707.

Krespi, Y.P., Slatkine, M., Marchenko, M., Protic, J. (2005). Lethal photosensitization of oral pathogens via red-filtered halogen lamp. *Oral Diseases*, 11 (Suppl. 1), 92-95

Lamont, R., & Jenkinson, H. (1999). Life below the gum line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromona gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 62(4):1244-1263.

Makela, M., Salo, T., Uitto, V.J., Larjava, H. (1994). Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the Oral Cavity: Cellular Origin and Relationship to Periodontal Status). *J Dent Res* 73(8): 1397-1406

Matevski, D., Weersink, R., Tenenbaum, H.C., Wilson, B., Ellen, R.P., Lépine, G. (2003). Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. *Journal of Periodontal Research*; 38; 428-435

Mombelli, A., Marxer, M., Gaberthüel, T., Grunder, U., Lang, N.P. (1995). The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 22, 124-130

Montalvo, C. E. (Agosto 2010). *Técnica Histológica*. Obtenido el 26 de junio del 2011. http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/Doc/Repaso_I/Apuntes%20bloque%20I/3_tecnica_histologica.pdf

Moore, W.E.C., Moore, L.V.H. (1994). The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 5: 66-77

Oliveros, R. (n.d.). Cromoendoscopia. Guía de Manejo. *Revista de Gastroenterología. Asociación Colombiana de Endoscopía Digestiva*. Obtenido el 28 de agosto del 2012. <http://www.encolombia.com/gastro14499-cromoendoscopia.htm>

Orellana, G., Villén, L. y Jiménez-Hernández, M. (n. d.). 11 *Desinfección mediante fotosensibilizadores: principios básicos*. Laboratorio de Fotoquímica Aplicada, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid, España. Obtenida el de enero del 2010, de http://www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/documents/libro/15_Capitulo_15.pdf

Page, R.C., Schroeder, HE. (1981). Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. *J Periodontol* 52: 477-491

Page, R.C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* 26(3 Pt 2): 230-242

Pejcic, A., Zivkovic, V. (2007). Histological Examination of Gingiva Treated with Low-level Laser in Periodontal Therapy. *J Oral Laser Applications*; 7: 37-43

Polansky, R., Haas, M., Heschi, A. and Wimmer, G. (2009). Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol*; 36: 575-580

Qin, Y. L., Luan, X. L., Bi, L. J., Sheng, Y. Q., Zhou, C. N., Zhang, Z. G. (2008). Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodont Res*, 43: 162-167

Raghavendra, M., Koregol, A., Bhola, S. (2009). Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. *Australian Dental Journal* 54:(1 Suppl), S102 - S109.

Sakar, S. & Wilson, M. (1993). Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res*, 28: 204-210

Sigusch, W., Engelbrecht, M., Völpel, A., Holletschke, A., Pfister, W. and Schütze, J. (July 2010). Full-Mouth Antimicrobial Photodynamic Therapy in *Fusobacterium nucleatum*-Infected Periodontitis Patients. *Journal Periodontol*, 975 - 981

Slots, J., Bragd, L., Wikström, M., Dahlén, G. (1986). The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 13: 570-577

Smith, P. (n.d.). *Métodos de estudio en Histología*. Obtenido el 20 de junio del 2011. Facultad de Medicina UC.

http://cursos.puc.cl/med203o-1/almacen/1299240174_psmithf_sec3_pos0.pdf

Stein, E., Koehn, J., Sutter, W., Schmidl, C., Lezaic, V., Wendtlandt, G., Watzinger, F. and Turhani, D. (February 2009). (Versión electrónica). *Photomedicine and Laser Surgery*, Vol. 27(Ed 1): 71-77.

Técnicas de tinción. Fundamentos. (n.d.). Obtenido el 20 de junio del 2011. Departamento de Químico-Biología de la Facultad de Ciencia Exactas – Universidad de Buenos Aires.

<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioTinciones.htm>

Villena, A., López-Fierro, P., Razquin, B., Fernández, V. (26/nov/2007). *Atlas interactivo on – line de Histología y Organografía Microscópica Comparada*. Obtenido el 20 de junio del 2011). Universidad de León.

<http://www.e-histologia.unileon.es/Inicio/home/tecnicas.htm>

Wilson, M., Dobson, J., Sarkar, S. (1993). Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiology and Immunology*; 8 : 182-187

http://es.wikipedia.org/wiki/Azul_de_metileno

http://es.wikipedia.org/wiki/Azul_de_toluidina

12. ANEXOS

ANEXO 1



Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito
El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ

Quito, Ecuador
27 de Marzo del 2012

Maria Dolores machado
Investigadora Principal
Presente
De mis consideraciones

Por medio de la presente, el Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito tiene a bien informarle que su estudio "Estudio in vivo de la eficacia de la fototerapia (laser diodo de GAIAS más sustancia fotosensibilizante) como coadyuvante de la terapia básica periodontal en el tratamiento de la enfermedad periodontal" ha sido aprobado en categoría de revisión por todo el comité con fecha de hoy, 27 de Marzo del 2012, en particular en lo que se refiere al protocolo de la investigación y al consentimiento informado.

Esta aprobación tiene una duración de un año, después de la cual se debe pedir una extensión si fuera necesaria.

En toda correspondencia con el Comité de Bioética, favor referirse al siguiente código de aprobación: 2012-2

El Comité estará dispuesto a lo largo de la implementación del estudio a responder tanto a los participantes como a los investigadores en cualquier inquietud que pudiera surgir. Asimismo, es importante recordar que cualquier novedad debe ser comunicada al Comité; específicamente cualquier evento adverso debe ser comunicado dentro de 24 horas.

El Comité de Bioética ha otorgado la presente aprobación en base a la información entregada por los solicitantes, quienes al presentarla asumen la veracidad, corrección y autoría de los documentos entregados. De igual forma, los solicitantes de la aprobación son los responsables de aplicarlos de manera correcta en la ejecución de la investigación, respetando los documentos y condiciones aprobadas por el Comité, así como la legislación vigente aplicable y los estándares nacionales e internacionales en la materia.

Atentamente,

William F. Waters, Ph.D.
Presidente del Comité de Bioética
Universidad San Francisco de Quito

Casilla Postal 17-12-841, Quito, Ecuador
PBX (593-2) 297-1775
comitebioetica@usfq.edu.ec

ANEXO 2**Formulario Consentimiento Informado
Universidad San Francisco de Quito
Comité de Bioética****Título de la investigación:**

Estudio In Vivo de la eficacia de la Fototerapia (Láser Diodo de GaAlAs más sustancia fotosensibilizante) como coadyuvante de la Terapia Básica Periodontal en el tratamiento de la enfermedad periodontal.

Versión y Fecha:

Versión 1. Abril del 2012

Organización del investigador:

Universidad San Francisco de Quito

Nombre del investigador:

María Dolores Machado Salamea

Número telefónico y correo electrónico del investigador principal:

Número fijo: (07) 2818914

Número celular: 097226465 (Alegro) y 095591282 (Movistar)

Correo electrónico: mariadoloresmachado@hotmail.com

1. Introducción

Usted está invitado a participar en un estudio de investigación el cual da tratamiento a personas que padecen enfermedad periodontal crónica la que es causada principalmente por bacterias; esta es una enfermedad que afecta a las encías haciendo que se vuelvan rojas, hinchadas y encogiéndolas; esto da lugar a que los dientes se pongan sensibles y exista mal olor en la boca; además esta enfermedad produce la pérdida del hueso que rodea y sostiene los dientes; es así que con el paso del tiempo si esta enfermedad no es tratada los dientes se moverán y posteriormente caerán solos.

En este estudio serán incluidos individuos adultos con enfermedad periodontal crónica, que no hayan recibido ningún tipo de tratamiento para curar esta enfermedad, ni hayan tomado antibióticos o antimicrobiano en los últimos tres meses; que sean saludables, además de no fumadores; y que acepten participar de esta investigación y firmen el término de consentimiento libre e informado.

Su participación es una elección; tome el tiempo necesario para tomar la decisión y analícela con su familia y sus amigos. Este formulario incluye un resumen de la información que los investigadores analizarán con usted. Si usted decide participar en el estudio, usted recibirá una

copia de este formulario. Por favor, haga todas las preguntas o inquietudes que tenga sobre el estudio.

2. ¿Por qué se está realizando este estudio de investigación?

El propósito del presente estudio es ofrecer otro tipo de tratamiento para la enfermedad de las encías, debido a que el tratamiento convencional el cual se realiza con cierto instrumental específico para limpiar las raíces de los dientes en el consultorio odontológico, en muchas ocasiones no resuelve la enfermedad, ya que hay sitios de difícil acceso para que llegue el instrumental por la mala posición o por formas complicadas de los dientes.

Para lograr resultados de mayor éxito, este estudio propone sumar al tratamiento que siempre se da para curar esta enfermedad; otro tipo de tratamiento llamado Terapia de Fotosensibilización o Fototerapia, el cual consiste en el uso de un láser de baja potencia utilizado en odontología y el uso de una sustancia llamada azul de metileno que será activada por el láser para eliminar las bacterias que afectan la encía y al hueso que rodea y sostiene a los dientes.

3. ¿Hay algún beneficio por participar en el estudio?

El beneficio por participar en el estudio para los pacientes seleccionados será recibir:

- Control de Placa bacteriana, Enseñanza, Instrucción y Motivación de la Higiene Oral (Explicación sobre la enfermedad periodontal, tratamiento y prevención; métodos e instrumentos de higiene a utilizar según el caso; técnica de cepillado; cómo mantener los resultados y los controles)
- Tratamiento de la enfermedad periodontal
- Mantenimiento a los tres meses del tratamiento

4. ¿Cuántas personas participarán en el estudio?

Treinta personas participaran de la presente investigación

5. ¿En qué consiste el estudio?

Este estudio tiene el objetivo evaluar los efectos clínicos antimicrobianos de la fototerapia la que consiste en el uso del Láser odontológico de baja potencia combinado con una sustancia llamada azul de metileno la que será activada por el láser para que elimine a las bacterias. La fototerapia es utilizada como tratamiento coadyuvante de la terapia convencional básica para tratar la enfermedad de las encías la que consiste en raspar o limpiar las raíces de los dientes y dejarlas lisas, de tal manera que se elimine los depósitos de placa bacteriana, cálculos (placa bacteriana endurecida), y tejido de la raíz contaminado

Es así que treinta pacientes con enfermedad periodontal crónica con marcados síntomas de inflamación gingival, que sean saludables, no fumen y no hayan recibido tratamiento antimicrobiano o antibiótico en los últimos tres meses serán seleccionados para la investigación.

Todos los pacientes participantes recibirán la correspondiente instrucción de higiene oral y motivación; posteriormente al azar los individuos serán divididos en dos grupos de quince participantes cada uno, denominados "Grupo de Control" y "Grupo de Estudio".

Los pacientes de ambos grupos recibirán la terapia convencional básica periodontal aplicada para el tratamiento de la enfermedad periodontal o enfermedad de las encías; sin embargo el Grupo de Estudio cuyos individuos fueron escogidos de manera aleatoria, a los dos días (48 horas) además, recibirán Terapia Fotodinámica, el cual es un procedimiento indoloro, el mismo que

implica la aplicación de la sustancia azul de metileno en los sitios afectados (bolsas periodontales); para posteriormente irradiar la luz láser en esas zonas.

Al cabo de tres meses los pacientes serán llamados a un control de valoración de resultados mediante unos indicadores periodontales; serán sometidos a un mantenimiento periodontal de su tratamiento y se reforzara la enseñanza, instrucción y motivación de la higiene oral.

6. ¿Cuánto tiempo durará mi participación en el estudio?

Al asistir usted a la atención de odontología general en el Hospital Mariano Estrella y ser diagnosticado por el odontólogo de turno que padece enfermedad periodontal; fue enviado/a al área de periodoncia de la cual mi persona está encargada, en donde le informare y explicare sobre la presente investigación, y con su aprobación mediante un pequeño examen de su boca y ciertas preguntas; me permitirán diagnosticar y saber si usted es un paciente apto para participar en el estudio. Cuando usted se sienta completamente informado, sin dudas, y en el caso de aceptar participar en la investigación y haya firmado el presente consentimiento informado; tendrá que asistir a cuatro citas, de las cuales las tres primeras serán en días continuos, mientras la cuarta cita se realizara después de tres meses. Las citas detallaremos a continuación:

1. Primera cita: Se llenara una ficha clínica o cuestionario con los datos generales del paciente, que además incluye preguntas para saber si el paciente padece alguna enfermedad, si toma medicación, si tiene alergias o algún impedimento para la realización del presente estudio. Posteriormente se hará un examen minucioso de su boca para descubrir alguna enfermedad adicional; se registraran ciertas medidas de sus tejidos que me proporcionaran una base de datos que facilitarán un diagnóstico más detallado, servirán de indicadores de la enfermedad periodontal para la investigación y me permitirán brindar el mejor tratamiento para su caso. Se educara al paciente sobre la enfermedad periodontal y los métodos de prevención, además será instruido sobre el control de su placa bacteriana; recibirá instrucción y motivación de higiene oral que incluye técnicas e instrumentos que debe utilizar para la misma. Se educara al individuo sobre la enfermedad periodontal y los métodos de prevención y control. La duración de la cita será aproximadamente de una hora y media.
2. Segunda cita: El paciente recibirá el correspondiente tratamiento periodontal que incluye la limpieza de las raíces de los dientes afectados. La cita tendrá una duración aproximada de una hora y media.
3. Tercera Cita: El paciente tendrá un control de su tratamiento; y en caso de ser sorteado se le aplicara adicionalmente el tratamiento de fototerapia (láser y sustancia fotosensibilizante). La cita durará entre treinta minutos a una hora aproximadamente.
4. Cuarta cita: En tres meses el paciente asistirá a otra cita odontológica para evaluar los resultados del tratamiento; y para la realización del correspondiente mantenimiento del tratamiento periodontal realizado.

7. ¿Cuáles son los riesgos de participar en este estudio?

Los riesgos son mínimos.

Diversos estudios de fototerapia respaldan el uso beneficioso del láser el cual es indoloro e inocuo para la salud.

La sustancia azul de metileno de la cual el único riesgo al aplicarse de manera tópica en la encía son posibles reacciones alérgicas como irritación local, hinchazón, sensación de quemadura, picor; sin embargo en casos muy raros y de sobredosis por vía venosa puede producirse dificultad para respirar, dolor en el pecho, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, ansiedad. Es necesario recalcar que en esta investigación se utilizaran mínimas cantidades de azul de metileno el cual será usado únicamente de manera tópica en la encía; además se realizara un sencillo test de sensibilidad a la sustancia antes del inicio del tratamiento.

El riesgo de contagio de enfermedades o diseminación de infecciones en los pacientes serán minimizados con los procedimientos de bioseguridad y la utilización de materiales estériles, además de materiales descartables; durante la realización de los exámenes bucales y procedimientos de tratamiento.

La instrumentación para limpiar las raíces de los dientes puede dar lugar a dolor, es por esta razón que los pacientes recibirán anestesia local para analgesia, control del dolor y desconfort; además se recetara la medicación adecuada que el paciente deberá adquirir en el caso de ser necesario para controlar el posible dolor posterior al tratamiento, el mismo que no es común.

Otro posible riesgo es la sensibilidad de los dientes tras el procedimiento de tratamiento, ya que las raíces al ser limpiadas ya no se encontraran cubiertas por la placa bacteriana, tártaro y cálculos que afectan la salud de los tejidos bucales pero cubren las zonas de las raíces desprotegidas que quedaron expuestas al medio ambiente bucal por la encía que se encogió; si el paciente indica que existe mencionada sensibilidad se procederá a la colocación de sustancias antisensibilizantes.

8. Los materiales y productos a utilizarse son:

- Materiales descartables como: gasa estéril, algodón estéril, succiones, baberos y campos.
- Anestésicos: Lidocaina 2% más epinefrina 1:80000 (Xylestesis-A); 3M ESPE
- Sustancia Fotosensibilizante Azul de Metileno: nombre comercial Chimiolux, Laboratorio HypoFarma. MS 80466460001. SAC 08007045144
- Laser Diodo GaAlAs terapéutico de Baja Potencia, Grupo Optonex
- Scaler MTI
- Instrumental: Espejos, exploradores, pinzas, Sondas periodontales, Curetas Gracey para dientes anteriores y posteriores; de las marcas Hu-Friedy, Miltex y American Eagle

9. ¿La información o muestras que doy son confidenciales?

Su privacidad es importante para nosotros. Haremos todo lo posible para mantener en forma confidencial toda la información personal sobre usted. Aplicaremos las siguientes medidas de seguridad para proteger la información que usted nos proporciona.

- Para proteger su privacidad la información o muestra tendrá un código.
- Solo las personas directamente relacionadas a la investigación sabrán su nombre.

- Su nombre no será mencionado en las publicaciones o reportes de la investigación.
- La información le será revelada siendo favorable o no.

El Comité de Bioética–USFQ es la única entidad autorizada para solicitar la identidad de los participantes en el presente estudio, en caso de problemas de ética o seguridad.

10. ¿Qué otras opciones tengo?

Usted puede decidir no participar. Sin embargo debe saber que, la única opción comprobada para tratar la enfermedad periodontal es la terapia básica periodontal convencional, la que se aplica a todos los pacientes en esta investigación.

Usted puede optar por utilizar cepillos dentales, enjuague bucal, pasta dental, hilo dental que se encuentran de libre venta en el mercado para cuidar o mejorar su higiene bucal; sin que esto detenga o cure la enfermedad periodontal que provoca daño en las encías, pérdida ósea, posterior movilidad y caída de los dientes que no recibieron el tratamiento correspondiente.

Cualquier decisión tomada por usted no afectara o no pone en riesgo su estado de paciente dentro de este centro de salud.

11. ¿Cuáles son los costos del estudio de investigación?

Su participación en el estudio y su tratamiento no tiene ningún costo, en cualquier grupo al que usted pertenezca (Grupo de control o Grupo de estudio). Los gastos del estudio serán asumidos por la parte investigadora.

El Ministerio de Salud Pública del Ecuador en la Provincia del Azuay no cuenta con centros que proporcionen la especialidad de periodoncia para que los pacientes reciban sin costo el tratamiento planteado en este estudio, por lo tanto al paciente le significará un ahorro a corto y mediano plazo, porque estará asegurando su salud bucal de manera gratuita.

12. ¿Me pagarán por participar en el estudio?

Usted no recibirá ningún pago por participar en este estudio.

13. ¿Cuáles son mis derechos como participante de este estudio?

Usted tiene derecho a recibir toda la información que considere necesaria.

Su participación en este estudio es voluntaria; es decir, usted puede decidir no participar. Además, si usted decide participar, puede retirarse del estudio en cualquier momento; para hacerlo debe ponerse en contacto con el investigador mencionado en este formulario de consentimiento informado. No habrá sanciones ni pérdida de beneficios si usted decide no participar o decide retirarse del estudio antes de su conclusión.

14. ¿A quién debo llamar si tengo preguntas o problemas?

Si usted tiene alguna pregunta acerca del estudio, llame o envíe un mensaje de correo electrónico a: Dra. María Dolores Machado Salamea; teléfonos 2818914, 097226465, 095591282. mariadoloresmachado@hotmail.com

Si usted tiene preguntas acerca de este formulario puede contactar a Dr. William F. Waters, Presidente del Comité de Bioética de la USFQ, al teléfono 02-297-1775 o por correo electrónico a: comitebioetica@usfq.edu.ec

15. El consentimiento informado

Comprendo mi participación y los riesgos y beneficios de participar en este estudio de investigación. He tenido el tiempo suficiente para revisarlo y el lenguaje del consentimiento fue claro y comprensible. Todas mis preguntas como participante fueron contestadas. Me han entregado una copia del este formulario de consentimiento informado. Acepto voluntariamente el participar en este estudio de investigación.

Firma del participante o representante legal

Fecha

Nombre del investigador que obtiene el consentimiento

Firma del investigador

Fecha

Firma del testigo (si es que aplica)

Fecha

ANEXO 3**PRESUPUESTO**

ITEM	VALOR
Instrumental	342.00
Ultrasonido Scaler Cavitron	450.00
Láser Diodo de Baja Potencia GaAlAs	2000.00
Kit Azul de Metileno Chimiolux	80.00
Insumos Odontológicos	150.00
Impresiones y Material de Oficina	350.00
Transporte - Alimentación	300.00
TOTAL	\$ 3672.00

ANEXO 4**CRONOGRAMA**

ACTIVIDAD	MESES											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Presentación para la Aprobación del Tema										X		
Preparación de Anteproyecto											X	X
Sustentación de Anteproyecto	X											
Recolección de la Información		X	X		X	X						
Tabulación de la Información					X	X						
Análisis de la Información							X	X				
Elaboración del Informe Final								X				
Presentación del Informe Final									X			
Sustentación del Informe Final									X			