



CEU

*Universidad
San Pablo*

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA

**“REDUCCIÓN DE LA FLORA PERIODONTAL MEDIANTE
TERAPIA FOTODINÁMICA. ESTUDIO COMPARATIVO.”**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR POR

Doctorando: Irene Montoya Díaz

MADRID 2017



CEU

*Universidad
San Pablo*

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA

**“REDUCCIÓN DE LA FLORA PERIODONTAL MEDIANTE
TERAPIA FOTODINÁMICA. ESTUDIO COMPARATIVO.”**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR POR

Doctorando: Irene Montoya Díaz

Dirección: Dr. Pedro Fernández Domínguez

Dr. Carlos Gutiérrez Ortega

MADRID 2017



FACULTAD DE MEDICINA
CLÍNICA UNIVERSITARIA ODONTOLÓGICA CEU-HM
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA

D. PEDRO FERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ, ODONTÓLOGO JEFE DE SERVICIO DE ODONTOLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO MADRID MONTEPRÍNCIPE, MADRID TORRELODONES Y MADRID PUERTA DEL SUR. Y DIRECTOR DE LA CLÍNICA UNIVERSITARIA ODONTOLÓGICA CEU-HM , FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD SAN PABLO CEU

CERTIFICO:

Que Doña Irene Montoya Díaz, ha realizado bajo mi dirección, el trabajo titulado "REDUCCIÓN DE LA FLORA PERIODONTAL MEDIANTE TERAPIA FOTODINÁMICA. ESTUDIO COMPARATIVO" y considera que este trabajo cumple plenamente los requisitos exigidos para ser presentado como Tesis doctoral.

Para que así conste, firmo el presente certificado en Madrid a 24 de Marzo de 2017

Fdo: Pedro Fernández Domínguez



FACULTAD DE MEDICINA
CLÍNICA UNIVERSITARIA ODONTOLÓGICA CEU-HM
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA

D. CARLOS GUTIÉRREZ ORTEGA, FACULTATIVO ESPECIALISTA DE ÁREA DEL SERVICIO DE MEDICINA PREVENTIVA DEL HOSPITAL CENTRAL DE LA DEFENSA, PROFESOR CLÍNICO DE LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, Y PROFESOR DE POSGRADO EN LA UNIVERSIDAD SAN PABLO CEU

CERTIFICO:

Que Doña Irene Montoya Díaz, ha realizado bajo mi dirección el trabajo titulado “REDUCCIÓN DE LA FLORA PERIODONTAL MEDIANTE TERAPIA FOTODINÁMICA. ESTUDIO COMPARATIVO” y considera que este trabajo cumple plenamente los requisitos exigidos para ser presentado como Tesis doctoral.

Para que así conste, firmo el presente certificado en Madrid a 24 de Marzo de 2017

Fdo: Carlos Gutiérrez Ortega

Agradecimientos:

En primer lugar, he de agradecer al Dr. Pedro Fernández Domínguez y al Dr. Carlos Gutiérrez Ortega por el apoyo recibido para la realización de esta tesis. Gracias por compartir vuestros conocimientos e ideas. Gracias por vuestro esfuerzo y dedicación.

A los pacientes que participaron en este estudio. Por su paciencia y su colaboración. Sin ellos, este proyecto no hubiera podido llevarse a cabo.

A mis compañeros de trabajo, por su apoyo incondicional y por el ánimo dado cuando éste flojeaba. Gracias por respaldar, de un modo u otro, mi esfuerzo.

Al Dr. Víctor Escribano Yáñez, por su inigualable ayuda en la toma de muestras y seguimiento de los pacientes. Eres un gran compañero y mejor persona. Y tengo que agradecerte el interés mostrado por mi trabajo. Te debo una.

Al grupo HM hospitales por poner a nuestra disposición sus medios e instalaciones.

A mis padres, por confiar en mí, y en mis expectativas. No hay mejor herencia que la educación recibida y los valores enseñados. Cada día me doy más cuenta de ello. Gracias por ser el gran pilar de mi vida.

Y a Marco, por tu paciencia y tu comprensión. Preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Gracias por estar siempre a mi lado.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCION.	10
1. Definición de Enfermedad periodontal:	
Antecedentes históricos.	11
1.1 Historia y Clasificación de la Enfermedad periodontal	12
1.2 Signos y síntomas de la enfermedad periodontal.	16
2. Etiopatogenia de la enfermedad periodontal.	17
2.1 Líneas de defensa del Huésped.	18
2.2 Modelos de Etiopatogenia de la enfermedad periodontal.	19
2.3 Factores influyentes en el proceso de la enfermedad periodontal.	22
3. Concepto de Biofilm.	23
3.1 Características de los Biofilms.	24
4. Papel de las Bacterias en la Periodontitis.	25
5. Papel de la respuesta inmune.	27
6. Papel de los factores genéticos.	27
7. Papel de los factores ambientales y sistémicos.	28
8. Tratamiento de la Periodontitis. Situación actual.	29
8.1 Metodología del tratamiento de la enfermedad periodontal.	31
8.2 Tratamiento coadyuvante con antisépticos y antibióticos.	35
8.2.1 Antisépticos bucodentales.	35
8.2.2 Terapia antibiótica.	38
9. Láser en Periodoncia.	39
9.1 Historia del Láser.	39
9.2 Mecanismo de acción de la Terapia Fotodinámica.	43
9.3 Agentes fotosensibilizantes.	45
9.4 Terapia Fotodinámica y Periodontitis.	46
10. Justificación.	53
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS	55
CAPÍTULO III: OBJETIVOS.	57
1. Objetivo principal.	58
2. Objetivos específicos.	58

CAPÍTULO IV: MATERIAL Y MÉTODO.	59
1. Diseño del estudio.	60
2. Población de estudio.	60
3. Criterios de selección.	61
a. Criterios de inclusión.	
b. Criterios de exclusión.	
4. Muestreo y tamaño muestral.	62
5. Variables a estudio.	63
a. Independientes.	63
b. Dependientes.	64
c. Control Sociodemográfico.	67
6. Material para medir variables.	68
7. Método a medida de las variables.	72
8. Método estadístico.	88
CAPÍTULO V: RESULTADOS.	90
1. Edad y sexo.	91
2. Variables clínicas dependientes.	
2.1 Índice de placa.	92
2.2 Profundidad de sondaje.	94
2.3 Sangrado al sondaje.	96
2.4 Recesión clínica.	99
2.5 Nivel de inserción clínica.	100
2.6 Grado de movilidad dental.	102
2.7 Grado de afectación de furca.	105
3. Variables microbiológicas:	
3.1 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .	108
3.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	110
3.3 <i>Tannerella forsythia</i> .	112
3.4 <i>Prevotella intermedia</i> .	114
3.5 <i>Treponema denticola</i> .	116

CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN.	120
1. Justificación de la muestra, de la terapia fotodinámica y de los parámetros estudiados.	121
2. Evolución de los parámetros en el tratamiento de la periodontitis. Efecto de la terapia fotodinámica.	
2.1 Evolución de los parámetros clínicos en el tratamiento de la periodontitis. Efecto de la terapia fotodinámica.	123
2.2 Evolución de los parámetros clínicos en el tratamiento. Efecto de la terapia fotodinámica.	129
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES.	135
CAPÍTULO VIII: ANEXOS.	138
Anexo 1: Consentimiento informado del estudio.	139
Índice de ilustraciones.	144
Índice de tablas.	146
Índice de gráficos.	150
CAPÍTULO IX: RESUMEN Y ABSTRACT.	151
CAPÍTULO X: BIBLIOGRAFÍA.	158

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN:

1. Definición de Enfermedad periodontal. Antecedentes históricos:

Llamamos enfermedad periodontal, al conjunto de problemas inflamatorios que existen en los tejidos de soporte de los dientes. Es causada por unos grupos específicos de microorganismos, que colonizan el área supra y subgingival. Estos microorganismos provocan, una destrucción progresiva del ligamento periodontal y hueso alveolar con la consiguiente formación de bolsas, recesiones o ambas.¹

Numerosos estudios demuestran que la existencia de determinadas bacterias periodontales se encuentran asociadas a la periodontitis. Y que la disminución de esas cantidades de bacterias se asocia a la salud dental.²

Esos periodontopatógenos principales son: *el Aggregatibacter actinomycetemcomitans, la Porphyromonas Gingivalis, la Prevotella Intermedia, la Tannerella Forsythia y la Treponema Denticola.*

A parte de las bacterias, ciertos virus y hongos están asociados a la enfermedad periodontal. El virus del herpes participa en la etiología de la enfermedad periodontal. Fue sugerido por su presencia en el tejido gingival, fluido Crevicular y en la placa subgingival de los pacientes con enfermedad periodontal. También, la *Cándida albicans* se ha cultivado en el interior de las bolsas periodontales de los pacientes con periodontitis crónica; y se ha encontrado invadiendo el tejido conectivo de pacientes con periodontitis agresiva.³

Esta enfermedad periodontal es a menudo una infección oportunista y se haya relacionada con el sujeto. Pues se ha demostrado que solo algunas personas desarrollan una desestructuración avanzada de los tejidos de soporte progresando con episodios de exacerbación y remisión localizada.

Si la placa formada sobre la superficie del diente no es eliminada, las bacterias allí presentes proliferan y maduran provocando la respuesta inflamatoria del huésped. Se establece un proceso

infeccioso, provocando la disminución de la tensión de oxígeno molecular y en consecuencia del potencial redox. Esta situación favorece la supervivencia y crecimiento de la flora bacteriana anaeróbica, prevaleciendo sobre la flora aeróbica y anaerobia facultativa.

Por tanto, los microorganismos periodontales son un factor necesario pero no es suficiente para el desarrollo de la enfermedad periodontal. Dependerán de otros factores para valorar la severidad de la enfermedad periodontal en el adulto. Es obligatoria la presencia de un hospedador susceptible y de unos factores modificadores.

1.1 Historia y clasificación de la enfermedad periodontal:

En los últimos años, la Asociación Americana de Periodoncia ha realizado diversas clasificaciones de las enfermedades periodontales.⁴ No fue hasta 1999 cuando se aprobó una nueva clasificación de las enfermedades y anomalías periodontales. Esta clasificación sigue vigente proporcionándonos un marco viable sobre el cual estudiar y desarrollar tratamientos efectivos para este grupo complejo de infecciones.⁵

La clasificación de las enfermedades periodontales queda resumida en el cuadro de la Ilustración 1 que se explica a continuación:

TABLA 3.- CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES. Workshop 1999

<p>I. ENFERMEDADES GINGIVALES</p> <p>A. INDUCIDAS POR PLACA</p> <ol style="list-style-type: none">1.- ASOCIADAS SÓLO A PLACA2.- MODIFICADAS POR FACT SISTÉMICOS3.- MODIFICADAS POR MEDICAMENTOS4.- MODIFICADAS POR MALNUTRICIÓN <p>B. NO INDUCIDAS POR PLACA</p> <ol style="list-style-type: none">1.- DE ORIGEN BACTERIANO ESPECÍFICO2.- DE ORIGEN VIRICO3.- DE ORIGEN MICÓTICO<ul style="list-style-type: none">• Infecciones por <i>Candida</i>• Eritema Gingival lineal• Histoplasmosis• Otras4.- DE OTIGEN GENÉTICO5.- MANIFESTACIONES GINGIVALES DE CONDICIONES SISTÉMICAS6.- LESIONES TRAUMÁTICAS7.- REACCIONES A CUERPO EXTRAÑO8.- DE OTRO TIPO (No especificadas) <p>II. PERIODONTITIS CRÓNICA</p> <p>A.- LOCALIZADA</p> <p>B.- GENERALIZADA</p> <p>III. PERIODONTITIS AGRESIVA</p> <p>A.- LOCALIZADA</p> <p>B.- GENERALIZADA</p> <p>IV. PERIODONTITIS COMO MANIFESTACIÓN DE ENF SISTÉMICA</p> <p>A.- ASOCIADA A DISCRASIAS SANGUÍNEAS</p> <ol style="list-style-type: none">1.- NEUTROPENIA ADQUIRIDA2.- LEUCOPENIAS3.- OTRAS <p>B.- ASOCIADA A DESÓRDENES GENÉTICOS</p> <p>C.- OTRAS (No especificadas)</p> <p>V. ENFERMEDADES PERIODONTALES NECROTIZANTES</p> <p>A.- GUN</p> <p>B.- PUN</p> <p>VI. ABSCESOS DEL PERIODONTO</p> <p>A. ABSCESOS GINGIVALES</p> <p>B. ABSCESOS PERIODONTALES</p> <p>C. ABSCESOS PERICORONALES</p> <p>VII. PERIODONTITIS ASOCIADA A LESIÓN ENDODÓNTICA</p> <p>VIII. CONDICIONES DEL DESARROLLO O ADQUIRIDAS</p> <p>A.- FACTORES DENTARIOS QUE MODIFICAN O PREDISPONEN A ENF GINGIVALES O PERIODONTALES INDUCIDAS POR PLACA</p> <ol style="list-style-type: none">1. FACTORES ANATÓMICOS DEL DIENTE2. RESTAURACIONES3. FRACTURAS RADICULARES4. REABSORCIONES RADICULARES CERVICALES Y PERLAS DE CEMENTO <p>B.- DEFORMIDADES MUCOGINGIVALES ALREDEDOR DE DIENTES</p> <ol style="list-style-type: none">1. RECESIONES GINGIVALES2. FALTA DE ENCÍA QUERATINIZADA3. REDUCCIÓN DE PROFUNDIDAD DE VESTÍBULO4. FRENILLOS E INSERCIÓNES MUSCULARES ABERRANTES5. AGRANDAMIENTOS GINGIVALES6. COLORACIÓN ANORMAL <p>C.- DEFORMIDADES MUCOGINGIVALES EN BRECHAS EDÉNTULAS</p> <ol style="list-style-type: none">1. DEFICIENCIA DE ALTURA O ANCHURA DEL REBORDE <p>D.- TRAUMA OCCLUSAL</p> <ol style="list-style-type: none">1. PRIMARIO2. SECUNDARIO
--

Ilustración 1: Clasificación de las enfermedades periodontales. Workshop 1999. Lindhe 2000.

(*) Puede ocurrir sobre un periodonto sin pérdida de inserción, o sobre un periodonto con pérdida de inserción, pero en fase de no progresión.

(+) Se clasifican en base a *extensión*: localizada (lugares afectados) y *severidad* (pérdida de inserción clínica. Leve: 1-2 mm, moderada: 3-4 mm y severa \geq 5mm

La *gingivitis asociada a placa*, es la más común de las enfermedades periodontales. Constituye una respuesta inflamatoria caracterizada por enrojecimiento, edema, sangrado, cambio de contorno del tejido gingival, pérdida de adaptación al diente e incremento del fluido Crevicular. La Biopelícula microbiana acumulada en la superficie dental, es el principal factor etiológico de las enfermedades gingivales por placa. Un desequilibrio entre los microorganismos y mecanismos de defensa del huésped provoca el

desarrollo de cambios patológicos en la encía, los cuales pueden ser agravados por enfermedades sistémicas, desordenando el sistema inmune.⁶

La *periodontitis* constituye el segundo grupo de patologías que afectan a la encía. Está caracterizada por pérdida de inserción. Los otros signos clásicos son el sangrado gingival, formación de bolsas, retracción gingival, sensación de diente largo, movilidad dental, halitosis, abscesos, pérdida ósea, y en algunos casos pérdida dental espontánea.⁷

La evolución de la severidad de la periodontitis, requiere un examen específico basado al menos en el sondaje periodontal. La profundidad de bolsa periodontal asociada a la cantidad de sangrado gingival puede ser considerada como el mejor marcador de la actividad de la enfermedad periodontal o de la carga inflamatoria o infecciosa de la periodontitis. La cantidad del nivel clínico de inserción y la pérdida ósea alrededor del diente reflejan el curso y severidad de la enfermedad periodontal.⁸

En 1985, *Page y Schroeder*¹⁴ describieron en su libro de "*Periodontitis in man and other animals*" los diferentes tipos de periodontitis.

Estos autores valoraron la periodontitis del adulto, en una enfermedad periodontal que afecta a pacientes con un rango de edad mayor a 35 años. Y con un patrón de pérdida ósea localizada o generalizada sin progresión rápida. Describen una enfermedad, no predispuesta a enfermedades sistémicas y sin anomalías leucocitarias. Y con una flora mayoritaria de Gram negativos (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Espiroquetas*); pudiendo aparecer manifestaciones inflamatorias como fibrosis. A continuación, queda resumida en la Tabla 1.

Tabla 1: Características de la periodontitis del adulto según Page y Schroeder. (1985).

<u>PERIODONTITIS ADULTO</u>
<ul style="list-style-type: none"> • Edad >35 años. • Depósitos microbiológicos en proporción con la cantidad destrucción periodontal. • Pérdida ósea generalizada o localizada sin progresión rápida. • No predisposición a enfermedades sistémicas. • No anomalías leucocitarias. • Gram negativos. • Existencia manifestaciones inflamatorias como fibrosis.

En 1989, se reúnen varios grupos de especialistas y crean una clasificación de la enfermedad periodontal, basándose en lo escrito por *Page y Schroeder*. A través del **World Workshop**, se puso en manifiesto que la periodontitis del adulto es una enfermedad que afecta a los tejidos de soporte de los dientes la cual comienza a la edad de 35 años con una tasa de progresión lenta. Existiendo reabsorción ósea y pérdida horizontal. Además, existen factores locales y ambientales que inducen a ésta. Pero no existe una etiología de patrón sistémico. Tabla 2.

Tabla 2: Periodontitis del adulto en 1989.

WORLD WORKSHOP 1989: PERIODONTITIS DEL ADULTO
<ul style="list-style-type: none"> • Edad ≥ 35 años. • Progresión lenta. • Reabsorción horizontal. • Factores locales y ambientales. • Ausencia etiología sistémica.

Posteriormente unos años más tarde, se establece en Europa otra clasificación esta vez, en el **European Workshop de 1993**, donde la periodontitis es descrita como un factor primario.

Y no es hasta 1999, en el **World Workshop de 1999**, donde se sustituye por el nombre de *“Periodontitis Crónica”*^{7,6} como a continuación se detalla en la siguiente Tabla 3.

Tabla 3: Descripción periodontitis crónica.

<i>WORLD WORKSHOP 1999. PERIODONTITIS CRÓNICA</i>
<ul style="list-style-type: none">• Pérdida de soporte del diente• Periodos de progresión moderados y periodos de progresión rápidos.• Destrucción en función de los factores locales.• Clasificación según su extensión y severidad.

La periodontitis crónica tiene mayor prevalencia en adultos, aunque pueden aparecer en individuos tanto en la primera o en la segunda dentición.

1.2 Signos y síntomas de la enfermedad periodontal:

Existen una serie de signos y síntomas claros para que se cree un problema en el periodonto. Estos son:

- Edema.
- Eritema.
- Aumento o recesión de la encía.
- Placa o cálculo supra y subgingival.
- Factores locales que aumentan el acúmulo de placa, sangrado o supuración al sondaje o espontáneamente.
- Movilidad.
- Apiñamiento o exfoliación dental.
- Pérdida de inserción no superando un tercio de la longitud radicular.

Además, la enfermedad periodontal se clasifica, según la localización y según el grado de afectación. Así podrían ser:

- **Extensión: Localizada** (<30%)
 - Generalizada** (>30% piezas afectadas)
- **Severidad: Leve** (pérdida inserción 1 a 2mm)
 - Moderada** (pérdida de inserción 3 a 4mm)
 - Avanzada** (pérdida de inserción superior a 5 mm).

2. Etiopatogenia de la enfermedad periodontal:

Las manifestaciones clínicas y biológicas de la enfermedad periodontal son productos de una compleja interacción entre el agente causal, esto es, bacterias de la placa dentobacteriana y los tejidos del huésped.

Dentro de la placa dentobacteriana, interactúan diversos microorganismos. Y aunque algunos no sean totalmente patógenos, pueden influir en el proceso lesivo de la enfermedad periodontal.

Además, la destrucción de los tejidos se debe en gran parte a la acción de las enzimas bacterianas que interactúan en los tejidos periodontales. Pero también a la respuesta del huésped a esas enzimas. Además, esa acción tisular destructiva se provoca por la reacción inflamatoria del huésped a componentes fisiológicos normales de las bacterias. Como son los polisacáridos que se encuentran en la membrana externa de las bacterias Gram negativas.

En la encía clínicamente sana, se establece un equilibrio huésped–parásito que se debe alterar para que el paciente progrese a gingivitis. Y así, para el establecimiento de esta gingivitis, deberá haber suficiente acumulación de placa dentobacteriana y retención de productos bacterianos que generen una respuesta inflamatoria de mayor magnitud.

Por otro lado, los microorganismos que se encuentran dentro de las bolsas periodontales están en continuo estado de fluctuación. Lo que determina que las especies que fueron importantes en un estadio de la enfermedad pueden no serlo en otras fases del proceso. La destrucción tisular puede ser resultado de la combinación de bacterias y factores bacterianos, que varían a través del tiempo.^{9, 10}

2.1 Líneas de defensa del huésped:

Existe una primera línea de defensa del huésped frente a los microorganismos que se llama *respuesta inmunitaria innata*. Previene las infecciones y puede eliminar por completo a cierto tipo de noxas. Sus mecanismos efectores estimulan a la *inmunidad adaptativa* e influyen en el tipo de respuesta. Se trata de un mecanismo de defensa más evolucionado que es estimulado por la exposición de los agentes infecciosos. Existen dos tipos de inmunidad adaptativa: La *inmunidad humoral* y la *inmunidad celular*. Ambas actúan en conjunto con el fin de eliminar a los antígenos y microorganismos.

La inmunidad humoral, es el principal mecanismo de defensa contra los microorganismos extracelulares y sus toxinas. En el cual, los componentes del sistema inmune que atacan a los antígenos. No son células directamente, son macromoléculas, anticuerpos. Intervienen los linfocitos T y B, los macrófagos, neutrófilos, mastocitos y células plasmáticas.

Por otro lado, la inmunidad celular es una forma de respuesta inmunitaria de selección natural mediada por los linfocitos T. Actúa como mecanismo de ataque en contra de los microorganismos intracelulares, como virus y algunas bacterias, capaces de sobrevivir y proliferar en las células del huésped. Donde no tienen acceso los anticuerpos circulantes. A continuación, se resume el mecanismo de defensa de los linfocitos en una inflamación. Ilustración 2.

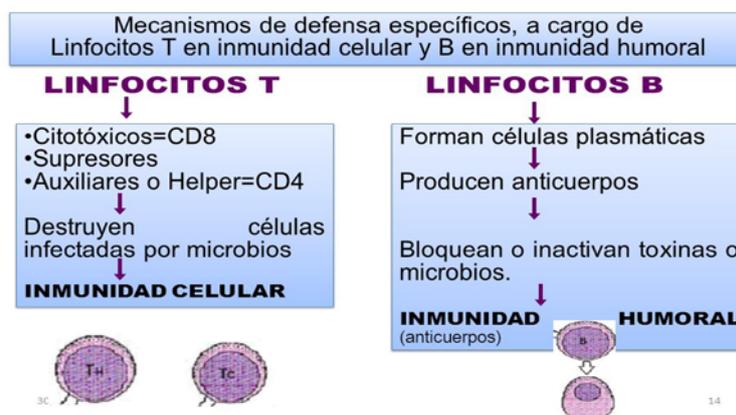


Ilustración 2: Mecanismo de defensa específicos.

La infección periodontal, es una enfermedad que se localiza en la encía y estructuras de soporte del diente, ligamento y hueso alveolar. Está producida por un grupo de bacterias que provienen de la placa subgingival; que funcionan normalmente de forma individual o en Biofilms, cuando se produce un desequilibrio entre la carga microbiana de la bolsa periodontal y los mecanismos locales y sistémicos de la respuesta del huésped.

El papel que desempeñan estas bacterias, es el desarrollo de la periodontitis participando en la formación de la bolsa periodontal; destruyendo el tejido conectivo y produciendo una reabsorción del hueso alveolar.

*Offenbacher*¹¹, en 1996, desarrolló un modelo etiopatogénico en el que la flora microbiana, permite al huésped ser capaz de frenar el proceso a través de unas primeras líneas de defensa por los polimorfonucleares. Confinando de este modo una lesión de gingivitis. Si ésta fracasara, actuará una segunda línea de defensa del huésped mediante el eje linfocito-monocito y la liberación de citoquinas y mediadores proinflamatorios que van a producir inflamación y destrucción de los tejidos, pérdida ósea y formación de bolsas periodontales, dando lugar a un proceso irreversible que es la periodontitis, la cual se detendrá cuando la flora patógena se modifique a una flora normal y se establezca el equilibrio de nuevo.

2.2 Modelos de etiopatogenia de la enfermedad periodontal:

Existen varios modelos de etiopatogenia de la enfermedad periodontal a lo largo de los años. Se remontan a los estudios realizados por *Page y Schroeder* desde 1976 y *de Lindhe y Kinane* en el 2000. *Page y Schroeder*,¹² establecieron un modelo de etiopatogenia dividiendo la lesión progresiva de los tejidos gingivales/periodontales en cuatro fases: lesión inicial, temprana, establecida y avanzada.¹²⁻¹³

Lesión inicial:

- 2-4 días de acumulación de Placa.
- Vasculitis por debajo del epitelio de unión.

- Migración de leucocitos hacia el epitelio de unión y surco gingival.
- Proteínas séricas en regiones extravasculares (fibrina).
- Aumento de exudación de líquido del surco gingival.
- Pérdida de colágeno extravascular.
- Alteración de la región coronal del epitelio de unión.

Lesión temprana:

- 4-7 días de acumulación de placa.
- Aumentan las alteraciones anteriores.
- Acumulación de linfocitos por debajo del epitelio de unión.
- Alteraciones cigomáticas de los fibroblastos.
- 60-70% pérdida de colágeno.
- Proliferación inicial de las células basales del epitelio de unión.
- Mayor aumento de exudación del fluido gingival.

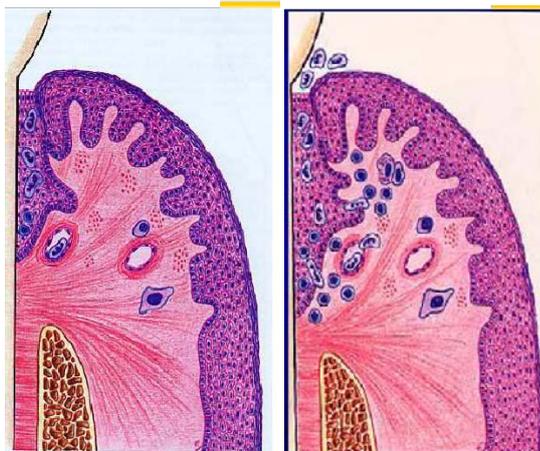


Ilustración 3: Corte histológico de lesión inicial y temprana.

Lesión establecida:

- 2-3 semanas de acumulación de placa.
- Se mantienen las alteraciones inflamatorias anteriores.
- Predominio de células plasmáticas.
- Predominio de inmunoglobulinas extravasculares.
- Pérdida grande de colágeno.
- Proliferación, migración y extensión lateral del epitelio de unión.
- Comienzo de formación de bolsas (epitelio de la bolsa).

Lesión avanzada:

- Todas las características de lesión establecida.
- Extensión a hueso alveolar y ligamento periodontal (reabsorción ósea).
- Pérdida continua de colágeno con fibrosis periférica del área inflamada.
- Formación de bolsas periodontales.
- Células plasmáticas alteradas.
- Periodos de actividad e inactividad.
- El epitelio de unión se transforma en epitelio de la bolsa.

Todas estas características de la histopatología de la enfermedad periodontal, propuesta por *Schroeder*, quedan simplificadas en los cortes histológicos de la encía pertenecientes a las figuras 2 y 3.

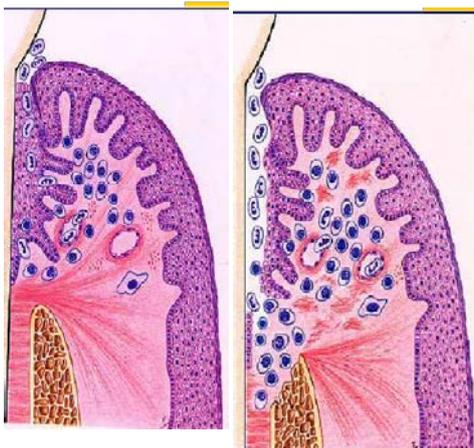


Ilustración 4: Cortes histológicos lesión establecida y avanzada.

2.3 Factores que influyen en el proceso de la enfermedad periodontal:

Con el paso del tiempo, se ha determinado por medio de los estudios realizados por *Kinane y Lindhe*¹³ en el año 2000, que esta clasificación histopatológica de *Page y Schroeder*¹⁴ debería reservarse para los modelos de enfermedad periodontal animal, y no deberían aplicarse al ser humano debido a los problemas relacionados con el tiempo.

Además, el proceso destructivo de la enfermedad periodontal puede verse acelerado o ralentizado en función de diversos factores. En primer lugar se encuentran *los factores locales o extrínsecos*. Se encuentran en aquellos pacientes con problemas de maloclusiones, mordidas abiertas, apiñamientos o diastemas, pacientes respiradores bucales con hábitos de empuje lingual, fumadores en pipa, tabaco. A parte de en pacientes con mala higiene. Por otro lado, se encuentran *los factores sistémicos o intrínsecos*, como son influencias nutricionales, hormonales, hematológicas, edad, influencias genéticas y enfermedades sistémicas. Todo esto englobaría la etiopatogenia de la enfermedad periodontal que se encuentra resumida en la Tabla 4.

Tabla 4: Factores que influyen en el proceso de la enfermedad periodontal.

Verdaderos factores de riesgo	Factor ambiental , de comportamiento o biológico asociado confirmado por una secuencia temporal en estudios longitudinales . (Exposición) Se expresa como un porcentaje de riesgo para desarrollar la enfermedad. Exposición, probabilidad de adquirir enfermedad.	Tabaco y diabetes
Indicadores de riesgo	Factores de riesgo potenciales . Factores causales biológicamente plausibles. Solo demuestran asociación a periodontitis en estudios transversales y casos controles .	Estrés, Osteoporosis, obesidad, higiene...
Determinantes de riesgo	Factores de susceptibilidad. Factores de riesgo no modificables .	Edad, sexo, raza, genotipo, estatus económicos.
Predictores de riesgo	Factores biológicos indicativos de enfermedad, pero no forman parte de la cadena causal de la enfermedad, se asocian a la probabilidad de padecer enfermedad.	Sangrado al sondaje.

3. Concepto de Biofilm:

Las superficies orales están expuestas a la colonización de un amplio rango de microorganismos. Las bacterias, no sólo se encuentran en estado planctónico, sino que también se hallan formando un conjunto de agregados bacterianos llamados *BIOFILMS*.

*Costerton et al*¹⁵ en 1999, definieron el Biofilm como comunidades íntimamente asociadas a bacterias, que se adhieren a superficies naturales, (dientes, tejidos blandos) o a superficies artificiales (restauraciones, prótesis, implantes) en un medio acuoso que contiene una concentración suficiente de nutrientes para sostener las necesidades metabólicas de la microbiota que lo compone.

Actualmente, se define como microcolonias bacterianas embebidas en una matriz discreta adaptada para resistir ciertas fuerzas y que a su vez se adhieren entre ellas mismas a otras superficies.

La formación de los Biofilms se produce a partir de dos tipos de entramados, las células planctónicas, y a partir de otro Biofilm. En función de si el Biofilm es supra o subgingival, el aporte de nutrientes procederá de diversas fuentes. Como son por ejemplo, la saliva y el fluido Crevicular. Ambos deberán aportar respectivamente a la placa Supragingival y a la placa subgingival.

En 1965, *Egelberg*¹⁶ realizó un estudio sobre perros donde observó la formación del Biofilm y la describió afirmando que en él, se formaba un *primer estadio* a los pocos minutos u horas, creándose una

Biopelícula sobre la superficie del diente tras la limpieza profesional. Estaba compuesta por glicoproteínas y anticuerpos y secreciones serosas del hospedador. Después aparecía un *segundo estadio* donde se adhería una serie de bacterias iniciales específicas de la Biopelícula. Destacando los Streptococcus, por su capacidad de co-agregarse entre cepas del mismo género.

Posteriormente, ocurría un *tercer estadio o fase*, donde se producía una multiplicación bacteriana. Para terminar con un *cuarto estadio o fase*, donde al multiplicarse las bacterias, se creaban nuevas condiciones medioambientales. Aquí el *Fusobacterium Nucleatum* juega un papel muy importante ya que se ha demostrado que es la especie que predomina numéricamente en la placa dental. Además que es considerada una bacteria que se co-agrega con prácticamente todas las bacterias orales evaluadas. Se demostró que es una bacteria muy importante en la formación del Biofilm, permitiendo adherirse a nuevas bacterias como son la *Treponella Pallidum*, *Selenomonas*, *Eubacterium*, *Porphyromonas Gingivalis*, *Agreggatibacter* y el *Helicobacter*.

3.1 Características de los Biofilms:

El Biofilm, aporta una serie de propiedades que benefician a la comunidad bacteriana contra cualquier mecanismo de defensa o tratamiento. Estas propiedades son, heterogeneidad fisiológica, regulación de fenotipos dentro del Biofilm, la comunicación entre bacterias a través de señales del Biofilm, capacidad adaptativa a través del intercambio de señales por los canales de agua, resistencia frente a los antimicrobianos.¹⁷

Se ha comprobado a través de los estudios, que es importante mantener correctamente la salud dental del paciente a nivel Supragingival, esto es, control óptimo del Biofilm Supragingival, para evitar la progresión de la enfermedad periodontal.

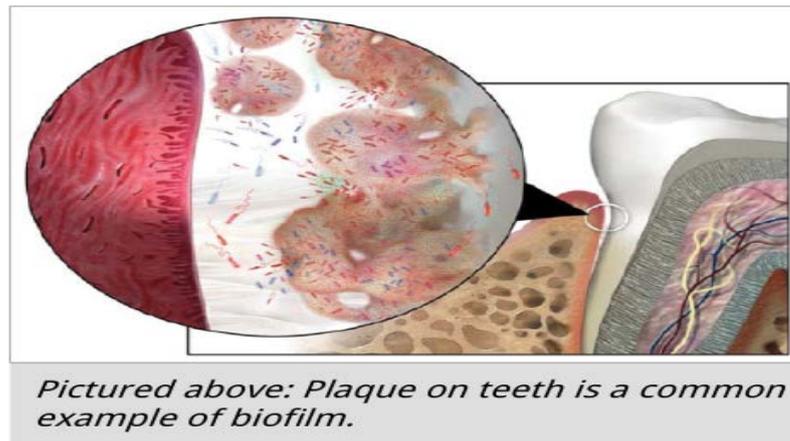


Ilustración 5: Creación del Biofilm en la placa dental. www.dentalcare.es

4. Papel de las bacterias en la periodontitis:

Los microorganismos periodontales son factores necesarios, pero no exclusivos, para desarrollar la enfermedad periodontal. Esto explica, que aunque existan bacterias subgingivales agrupadas en comunidades, Biofilms, que son esenciales para el inicio y progresión de la enfermedad periodontal, no pueden explicar por sí sola la cantidad y el tipo de bacteria para aumentar la severidad de la enfermedad en el adulto.¹⁸

Existen del orden de 700 especies de bacterias cultivables localizadas en una muestra subgingival. De éstas, muchas muestran su patogenicidad produciendo productos tóxicos como endotoxinas, amoníaco, leucotoxinas, y una serie de enzimas que producen destrucción de los tejidos periodontales.

Socransky y cols, en 1998,¹⁸ realizaron un estudio muy importante donde analizaron 13261 muestras de 185 pacientes, evaluando hasta 40 especies subgingivales. Los resultados los dividieron en 5 grupos que quedan explicados en la Ilustración 6.

- *Grupo rojo*: mayor grado de sangrado y profundidad de bolsa. *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*.

- *Grupo naranja*: guardando relación con el grupo rojo. Destacando *Prevotella intermedia*, *P. Nigrescens*, *P. Micros*, *Fusobacterium nucleatum*.
- *Grupo Amarillo*: *Streptococcus Oralis* y *sanguis*.
- *Grupo verde*: *Capnocytophaga* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* entre otros.
- *Grupo púrpura*: *Actinomyces serotipo A* y *Veillonela*.
- *Sin grupo*: *Actinomyces serotipo B*, y *Selenomonas*.

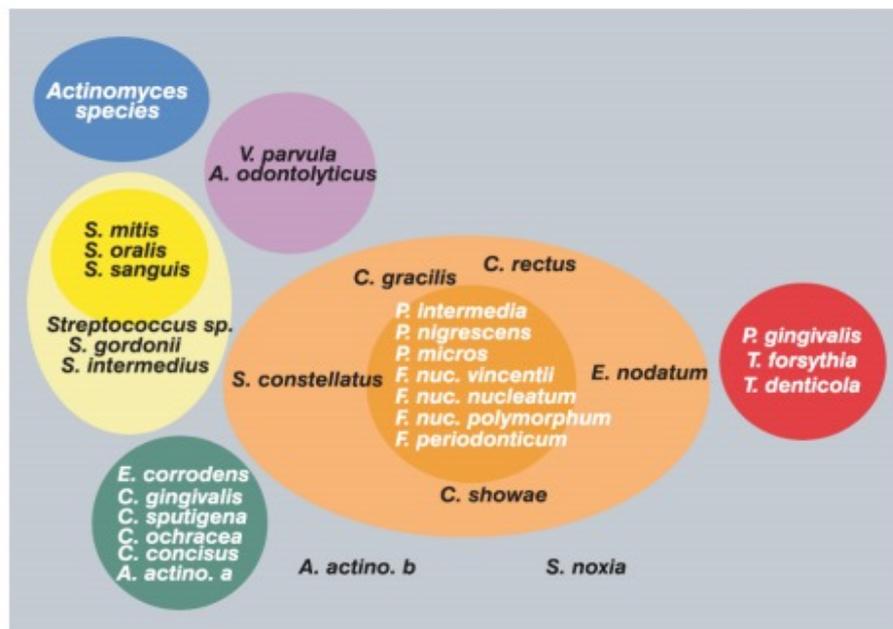


Ilustración 6: Grupos de especies subgingivales según el estudio Socransky de 1999. Periodoncia clínica e Implantología odontológica. Lindhe. Editorial médica panamericana.

Esto demostraba la distribución y asociación entre grupos para la secuencia de colonización. Así el grupo amarillo, serían los colonizadores tempranos. Después, el grupo verde. Luego, el grupo naranja, y finalmente el grupo rojo, cuyas especies estaban ausentes en el 64 % de las muestras. De acuerdo con el World Workshop de 1996 los patógenos periodontales se dividirían en grupos de mayor a menor evidencia:

- **Evidencia fuerte:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivales*, *Bacteroides Forsythus*.
- **Evidencia moderada:** *Prevotella intermedia*, *Prevotella Nigrescens*, *Treponema Dentícola*, *espiroquetas*, *st. Intermedius*.
- **Evidencia inicial:** *E. corrodens*, *bacilos entéricos*, *pseudomonas*, *Selenomonas* y *staphylococcus*.

5. Papel de la respuesta inmune:

Ebersole y Taudman en 1994¹⁹ demostraron que los individuos con periodontitis tienen los niveles de anticuerpos séricos elevados frente a agentes bacterianos específicos. Lo que demuestra que el huésped desarrolla una respuesta inmunológica contra las bacterias periodontales. Es decir, una relación entre respuesta y naturaleza de la periodontitis.

Además, *Trombelli y cols*²⁰, estudian la diferencia de respuestas que pueden tener diferentes individuos al ataque bacteriano. Así, plantean que se dan individuos con alta respuesta al ataque bacteriano así como individuos de baja respuesta ante ese ataque bacteriano. Indican que la capacidad de respuesta sería independiente a la composición cuantitativa y cualitativa de la placa. A parte, esta respuesta también se verá afectada por factores genéticos como ambientales.

6. Papel de los factores genéticos:

Existe una evidencia de susceptibilidad genética en la enfermedad periodontal. Y esto lo demuestran varios estudios como los de *Kinane y Offenbacher*.^{11,12}

En el año 1993, *Van der Velden y cols*²¹ demostraron el efecto de la relación fraternal en el hallazgo significativo de la placa, cálculo y pérdida de inserción sin que hubiese una correlación significativa entre ellos. Por lo que demostraría el papel genético en la periodontitis.

Posteriormente en el año 2000, *Michalowicz y cols*²² afirmaron que el 82% de la variabilidad del nivel de inserción, índice de placa, profundidad de sondaje e índice gingival se atribuye a factores genéticos. Y además afirman que la periodontitis crónica tiene un 50% de probabilidad de ser heredable aunque existan variables medioambientales, por ejemplo, el tabaco.

7. Papel de los factores ambientales y sistémicos:

El uso del *tabaco* está relacionado no sólo con problemas de salud de causa cardiológica o cáncer o partos prematuros. También está relacionado con la etiopatogenia de la enfermedad periodontal. Lo demuestran los estudios sobre este tema. Demostrando que el tabaco aumenta el riesgo de sufrir enfermedad periodontal.^{23, 24}

Además, *Socransky*¹⁸ en su estudio del año 2007, demuestra que existen un mayor número de bolsas profundas en las zonas linguales de los dientes de los pacientes fumadores. Se observa una supresión de la función de las células B y una alteración en la supresión de las inmunoglobulinas. Esto es, una supresión del sistema inmune. También se aprecian alteraciones en las funciones de los polimorfonucleares y disminución de los linfocitos T Helper, tan importantes para la función celular B y su producción de anticuerpos. De hecho, se contempla una disminución de la IgA salival y de la IgG séricas frente al actinomyces comitans. Así como el aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias en pacientes fumadores añadiendo mas evidencia aún sobre los efectos tabaco en la enfermedad periodontal.

Existe evidencia científica que demuestra la respuesta inflamatoria gingival reducida en fumadores donde hay menores localizaciones de sangrado al sondaje. Esto es debido al efecto vasoconstrictor sistémico de la nicotina. Se observa un flujo gingival reducido en fumadores.

Por otro lado, se debe valorar la relación de la *Diabetes no controlada* con la enfermedad periodontal. La diabetes se define, como el conjunto de desórdenes metabólicos caracterizados por la presencia de hiperglucemia debido a los defectos en la secreción y/o acción de la insulina. Se trata de un factor de ries-

go modificable²⁵. Existe evidencia científica y epidemiológica suficiente para afirmar que los pacientes diabéticos no sólo presentan mayor incidencia de periodontitis que los no diabéticos, sino que además, se trata de una periodontitis más severa que la de los no diabéticos. Aunque su extensión es similar.²⁶

Se trata de una relación *bidireccional*. Lo que indica que la falta de control de la enfermedad aumenta el riesgo de recurrencia, pero el buen control de la diabetes proporciona respuestas similares que en individuos sanos. Por eso es un factor modificable.

El papel del *Estrés y la depresión* también se considera un factor asociado a la enfermedad periodontal. Se encuentra asociado al estrés de tipo emocional. Los estudios de *Heckmann y cols*, y *Hugoson y cols* afirman esto.^{27, 28} A mayor estrés, mayor pérdida de inserción y mayor pérdida ósea. Además, el hecho de tener estrés emocional acentúa también otros factores asociados. A mayor estrés, mayor consumo tabaco, menor dedicación a la higiene y control de placa. Y a menor control de placa, las *bacterias* aumentarán su acción destructiva de tejidos de inserción y *la progresión del cálculo subgingival* será clave para la progresión de la enfermedad. Por eso es tan importante el papel del paciente para el control de la enfermedad periodontal.

Además, existen otros estudios donde corroboran la relación de la enfermedad periodontal con otros factores. Como son el estatus socioeconómico, el sexo, la raza, enfermedades de origen sistémico como el VIH, síndromes, pacientes con maloclusiones, pacientes con enfermedades asociadas a alteraciones inmunológicas.^{3,10,17}

8. Tratamiento de la periodontitis. Situación actual.

El tratamiento periodontal comprende la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades de los tejidos de soporte alrededor de los dientes, manteniendo la salud, la función y la estética de todas las estructuras de soporte (encía, ligamento periodontal, cemento, hueso alveolar).²⁹

En un principio, los estudios de *Rosling, Lindhe y Nyman*^{30, 31} demostraron que con el tratamiento quirúrgico y el control de placa profesional cada 2 semanas, se podía controlar de manera efectiva tanto la

gingivitis como la periodontitis. Posteriormente en el año 2005, la **Academia Americana de Periodoncia** aconsejó el seguimiento de unas pautas para el tratamiento de la periodontitis crónica: ³²

1. Tratamiento mecánico: raspado supra y subgingival.
2. Instrucciones de higiene oral.
3. Raspado y alisado radicular.
4. Reevaluación.
5. Cirugías:
 - Terapia resectiva: Cirugía a colgajo con o sin osteotomía, Amputación radicular.
 - Terapia regenerativa.
 - Terapia mucogingival.

En la revisión bibliográfica llevada a cabo por *Kaldahl y cols* en el año 1993³³, llegamos a una serie de conclusiones en cuanto a la terapia periodontal. Esta terapia periodontal puede ser **quirúrgica y no quirúrgica** y existen diferencias entre ellas. Ambas pueden mejorar los resultados clínicos periodontales. Además, a corto plazo se evidencian diferencias entre la terapia quirúrgica y no quirúrgica, aunque no a largo plazo. Teniendo mejores resultados la no quirúrgica a corto plazo.

Por otro lado, la cirugía ósea produce mayor reducción de la profundidad de sondaje a corto plazo. Y la cirugía sin resección ósea obtiene mejores niveles de inserción a corto y largo plazo. Aunque produce mayor pérdida de sondaje en bolsas inicialmente profundas.

Así también está demostrado que existen mejores resultados con RAR, que con una higiene Supragingival. Y que es muy importante una estricta terapia de mantenimiento. Además, puede ser buena opción diagnosticar microbiológicamente y así prescribir un antibiótico adecuado si fuera necesario. Aunque cada

vez hay más estudios que nos indican que hay una terapia alternativa a la toma de antibióticos como es la terapia fotoactiva.^{34,35} Todo ellos para disminuir la cantidad de odontopatógenos.^{36, 37}

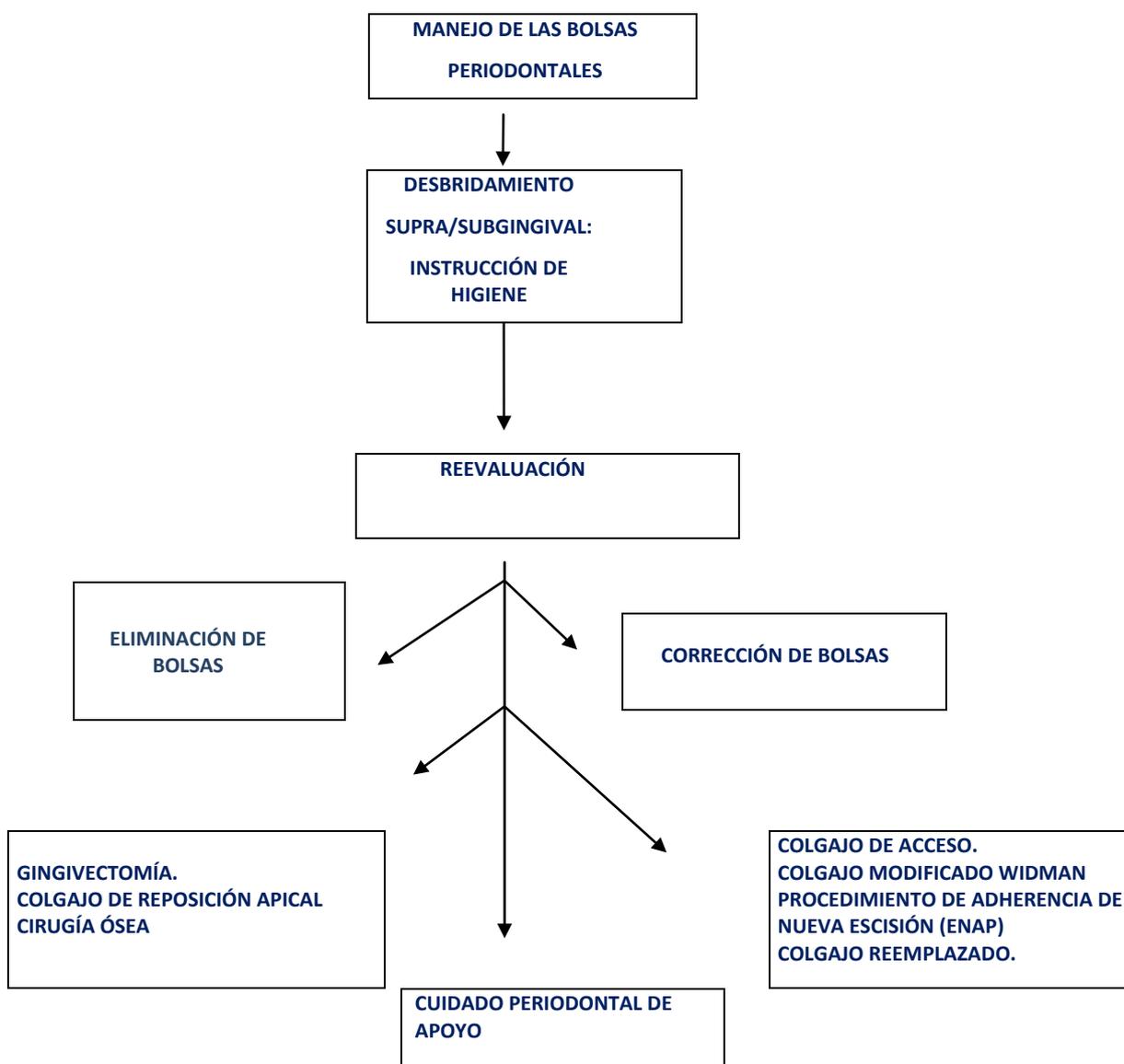
Tampoco debemos olvidarnos de la comprobación de una serie de factores para el control de factores ambientales. Como por ejemplo:

- Eliminación o recontorneado de coronas u obturaciones desbordantes o sobrecontorneadas.
- Ajuste de prótesis mal adaptadas.
- Tratamiento de caries.
- Odontoplasias.
- Movimientos dentarios.
- Restauración de contactos abiertos que favorezcan la impactación de restos de comida.
- Tratamiento del trauma oclusal.
- Extracción de dientes con pronóstico imposible.

8.1 Metodología del tratamiento de la enfermedad periodontal:

Como sabemos, el objetivo del tratamiento periodontal es reducir la infección de los tejidos periodontales a través de dos modalidades principales de tratamientos: **la terapia quirúrgica y la terapia no quirúrgica**. Cada una de estas dos modalidades conlleva una secuencia de uso en el manejo de bolsas periodontales^{38, 39} sintetizada en la Tabla 5 .

Tabla 5: Representación esquemática de las modalidades de tratamiento y sus secuencias de uso en el manejo de las bolsas periodontales.



La *terapia no quirúrgica* consiste en el raspado y alisado radicular mecánico e instrucciones de higiene oral. Así se consiguen eliminar y prevenir los depósitos bacterianos localizados reiterados en las superficies dentales supragingivales y subgingivales.^{40, 41}

La remoción de la placa dental forma parte del control y tratamiento de la enfermedad periodontal. Además, se disminuye la inflamación de los tejidos periodontales, se eliminan los patógenos periodontales más virulentos, disminuye la destrucción de los tejidos y previenen la pérdida dental. Algunos estudios, han observado el cambio de movilidad dental después del tratamiento periodontal no quirúrgico.⁴¹

Se han descrito mejores resultados en los dientes con mucha movilidad que en aquellos con poca movilidad. Esto es debido a la pérdida ósea radiográfica y pérdida de inserción. Además, también se ha demostrado mejores resultados en pacientes con pérdida de inserción grande y bolsas profundas que en pacientes con pérdida de inserción pequeñas y bolsas superficiales.⁴²

Además, los estudios realizados a lo largo de los años han demostrado que la terapia no quirúrgica es muy efectiva, debido a que se consiguen una disminución en los signos clínicos como la profundidad de bolsas, el sangrado al sondaje, el nivel de inserción que conseguimos aumentar y la disminución de la inflamación gingival.^{43,44}

Cuando se tiene que tratar una periodontitis moderada o avanzada, a menudo la *intervención quirúrgica* es necesaria. Esto tiene lugar, cuando la terapia no quirúrgica ha sido insuficiente. Da lugar al desbridamiento de las superficies radicales infectadas y además establece una morfología gingival adecuada que facilita la limpieza y control de placa por parte del paciente.⁴¹

Debe realizarse si el paciente está física y psíquicamente sano para entender en qué consiste este tratamiento y debe comprometerse a mejorar sus hábitos de higiene. Lograremos una mayor reducción de las bolsas y ganaremos adherencia epitelial.

*Rosling y cols,*⁴⁵ *Lindhe y Nyman*⁴⁶, demostraron en sus estudios que con el tratamiento quirúrgico y con el control de placa cada dos semanas se podía controlar de manera efectiva la enfermedad periodontal.

Posteriormente, en los estudios de *Becker y cols,*⁴⁷ se comprobaron los resultados de un estudio a cinco años sobre la efectividad de los tratamientos periodontales con la finalidad de reducir la profundidad de sondaje manteniendo los parámetros clínicos de inserción. Compararon el raspado y alisado radicular, la cirugía a colgajo de Widman modificado y la cirugía ósea. Todo esto en un estudio a cinco años de mantenimiento. En las bolsas moderadas, se obtuvieron mejores resultados entre los dos y los 4 años que una terapia mecánica sin cirugías. Pero no hubo diferencias a los cinco años en cuanto al nivel de inserción y la

profundidad de sondaje. Aunque se observó una mayor estabilidad en el grupo de raspado y alisado radicular.

*Kaldahl y cols,*⁴⁸ compararon diferentes tipos de tratamientos: por un lado la tartrectomía supragingival, el raspado y alisado radicular, el colgajo de Widman modificado y el raspado y alisado radicular a cielo abierto con cirugía ósea incluida. Cada paciente recibió en cada cuadrante uno de los cuatro tratamientos. La tartrectomía supragingival provocó cambios positivos pero no suficientes para mantener el estado de salud. A los dos años recidivó la enfermedad en ese cuadrante tratado solo con eso. En cuanto a las bolsas moderadas y profundas la cirugía ósea mostró mejores resultados clínicos respecto al raspado y alisado y al colgajo de Widman modificado aunque no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos a partir de 3 y 5 años. Aunque se ganó nivel de inserción. Pero en el tratamiento de bolsas profundas sometidas a cirugía ósea, no ganó nivel de inserción.

Por otro lado *Fabrizi y cols,*⁴⁹ en su estudio de tratamiento quirúrgico versus tratamiento no quirúrgico, concluyeron que la decisión de tomar un tratamiento u otro formaba parte de la responsabilidad del operador. Esto es, si el caso era de complejidad, sería recomendable realizar la cirugía quirúrgica.

*Fleischer y Matia*⁵⁰⁻⁵¹, demostraron una eficacia superior en pacientes tratados periodontalmente con cirugía quirúrgica que en pacientes tratados sin cirugía quirúrgica a nivel periodontal. Siempre y cuando se den bolsas moderadas o profundas.

La mayoría de los estudios concluyen que hay una mejor eficacia en el tratamiento quirúrgico periodontal debido al mejor acceso que se tiene y mejor visibilidad.^{41,45,46,52} Sobre todo cuando existen localizaciones imposibles de acceder o insuficientes. Esto es, en bolsas de sondaje profundo, en zonas de furcas en piezas multirradiculares, y en defectos óseos candidatos o no a regeneración periodontal. Todo esto siempre acompañado de un buen mantenimiento periodontal, pues es la clave del éxito.⁵³

8.2 Tratamiento coadyuvante con antisépticos y antibióticos:

El control de la placa bacteriana es el método principal de prevención de la enfermedad periodontal. Además, para ayudar a este control, necesitamos de un control químico sobre la placa complementando al control mecánico. Los fármacos utilizados más comúnmente y que han demostrado su eficacia son los antisépticos bucodentales y los antibióticos.

8.2.1 Antisépticos bucodentales:

Son los más utilizados para el control químico de la placa dental. Siempre usados de forma complementaria al control mecánico. Evitan la adherencia bacteriana con los agentes antiadhesivos que contienen.⁵⁴ Son los hipocloritos y actualmente no se usan porque son tóxicos en el medio oral.

Detienen o retrasan la proliferación bacteriana. Eliminan la Biopelícula establecida con lo que a veces se le ha denominado el “cepillo químico dental”. Además, son capaces de producir una alteración en la formación de la placa.

La *clorhexidina* es, sin duda, el mejor antiséptico de elección en Periodoncia. Su uso es amplio y es el más efectivo reduciendo la placa y la gingivitis en un 60 % de los casos.⁵⁴

Kshitish y Laxman,⁵⁵ realizaron un estudio en pacientes con periodontitis crónica generalizada para evaluar y comparar los efectos de la irrigación con clorhexidina al 0,2%. Los autores observaron un alto porcentaje de reducción de placa, reducción del nivel de sangrado e índice de gingival menor.

De acuerdo con la Asociación Dental Americana, los antisépticos orales son reconocidos por sus beneficios terapéuticos como la reducción de gingivitis, de placa, reducción de la halitosis y acción antimicrobiana.

Bascones y Morante,⁵⁴ realizaron una revisión sobre los antisépticos orales, y llegaron a la conclusión de que éstos debían contener las siguientes características para realizar un buen control de placa:

- **Especificidad:** El control de la placa no debe basarse en antibióticos, siendo reservados para uso sistémico en infecciones dentales o enfermedades sistémicas específicas. Solo las bacterias consideradas como objetivo deberían ser eliminadas.

- **Eficacia:** La pauta terapéutica viene determinada por la concentración mínima inhibitoria para las bacterias asociadas a patologías dentales. Aceptando la naturaleza no específica de la placa dental, las características antimicrobianas de los antisépticos bucales hacen que sean el fármaco de elección. Para determinar la eficacia se suele emplear el modelo de gingivitis experimental de Løe, de 1965.⁵⁶ En ausencia del control de la placa durante 21 días, el agente antimicrobiano, debería eliminar placa, prevenir su formación o reducir su cantidad por debajo del nivel patógeno. Esta asunción se basa en la teoría inespecífica de placa, ya que no se atribuye a una bacteria o grupo de bacterias el inicio en la progresión de la enfermedad. Por lo tanto el antiséptico de elección debe ser de amplio espectro.

Por su potencia de acción, los antisépticos orales se clasifican en: *alta potencia*, como son la sanguinaria y la clorhexidina, con una acción similar a los antibióticos. De *baja potencia*, como el fluoruro sódico, y de *muy baja potencia*, como el timol y el cetilpiridino.

- **Sustantividad:** Es la cualidad que mide el tiempo de contacto entre una sustancia y un sustrato en un medio dado. Al tratar infecciones dentales, ésta es una cualidad muy importante, ya que el agente antiséptico necesita cierto tiempo de contacto con el microorganismo para inhibirlo o eliminarlo, a diferencia de las infecciones sistémicas en las que el tiempo de contacto deseado puede obtenerse mediante aplicaciones periódicas parenterales o enterales del fármaco. Esta propiedad dio lugar a la clasificación en generaciones de los antisépticos.

Se consideran de *primera generación*, a algunos antibióticos, compuestos de amonio cuaternario, compuestos fenólicos y agentes oxidantes y fluoruros. Contienen baja sustentividad. Después están los de

segunda generación, con una alta sustantividad, como las bisguanidas (clorhexidina). Y las *de tercera generación*, que inhiben la adhesión bacteriana.

- **Seguridad:** Los agentes antimicrobianos se han ensayado extensamente por lo que su uso está avalado científicamente. La seguridad de un fármaco viene condicionada por su permeabilidad y su potencial de toxicidad.
- **Permeabilidad:** Se deben absorber en el tracto intestinal y pasar después al torrente sanguíneo. La permeabilidad de la membrana es una característica importante de los agentes de peso molecular relativamente alto como la clorhexidina y la sanguinaria que se absorben mal y su toxicidad es baja.
- **Potencial de toxicidad:** Éste debe ser bajo. Los compuestos más tóxicos son las soluciones de fluoruros de concentraciones de 0,2 a 2% siendo los menos tóxicos, los antibióticos como las tetraciclinas.⁵⁷

Además, se sugieren que los químicos puedan agruparse dentro de tres categorías basadas en sus propiedades individuales.⁵⁸

- **Grupo A:** Son descritos como agentes antiplaca, que inhiben la formación de placa hasta tal punto que previenen el desarrollo de la gingivitis. Estos químicos incluyen la clorhexidina, el cloruro de sodio acidificado, salifluor y delmopinol. Existen en forma de enjuague bucal. Pueden ser usados en la remoción de placa, cuando el paciente no puede limpiarse los dientes por sí mismo.
- **Grupo B:** Son los aceites esenciales, enjuagues de cetilpiridino y el triclosan. Estos agentes deben de ser usados como complemento de la limpieza mecánica (cepillado dental) y son inhibidores de placa.

- **Grupo C:** Tienen actividad de baja a moderada. Son enjuagues con poco o ningún efecto en la acumulación de placa. Son usados para refrescar el aliento. Son enjuagues que contienen sanguinaria, agentes oxidantes y enjuagues de hexetidina.

El uso de esta clasificación, aconseja al clínico sobre el tipo de enjuague que debe usar en cada situación clínica específica.

8.2.2 Terapia antibiótica:

El uso del fármaco antibiótico por vía sistémica parece ser que posibilita tratar múltiples bolsas simultáneamente y alcanzar otras zonas de la cavidad bucal que podrían actuar como reservorios de bacterias. No existe el fármaco ideal. En la literatura se habla de numerosos antibióticos, pero no hay a día de hoy, uno solo que sea el más directo a la hora de actuar.⁵⁹

Por otro lado, existen los antibióticos tratados localmente, que permiten alcanzar concentraciones dentro de la bolsa periodontal entre 10-100 veces superiores a las conseguidas a nivel sistémico. Por no hablar del riesgo menor que tienen los antibióticos a nivel local de reacciones adversas o resistencias bacterianas.

Las desventajas que tienen los antibióticos usados a nivel local frente a los usados a nivel sistémico, son que requieren una mayor dedicación, los mecanismos de acción son más lentos y existe un riesgo de recidiva debido al restringido campo de actuación.⁵⁹

El uso de antibióticos combinados con los tratamientos de desbridamientos mecánicos, han mostrado una eliminación bacteriana efectiva en el tratamiento de periodontitis. Ahora bien, al margen de la efectividad de los tratamientos mecánicos, existen limitaciones.

Estas *limitaciones* son: la incapacidad de eliminar de una forma predecible determinados patógenos periodontales, el limitado acceso de algunos agentes tópicos, la capacidad de recolonización de los

patógenos periodontales persistentes en otros nichos orales así como el gran problema que supone el uso abusivo de los antibióticos: las resistencias.²

9. Láser en Periodoncia.

9.1 Historia del láser:

La palabra láser es un acrónimo de luz amplificada por emisión estimulada de radiación (light amplification by stimulated emission of radiation). En 1916, *Einstein* postula la teoría de la emisión estimulada y la publica en 1917 en su tratado.⁶⁰

La emisión estimulada, es el proceso por el que se producen los haces del láser dentro de la cavidad láser. Albert Einstein basó su tratado en algún trabajo anterior de físicos alemanes (Max Planck) y daneses (Niels Bohr). El principio físico del láser está basado en la teoría cuántica de Max Planck, que estableció la teoría de un modelo del átomo además de la teoría cuántica de la física.

Einstein utilizó este concepto y después estableció la teoría de que el átomo ya energizado puede absorber un cuanto de energía adicional y daría lugar a la liberación de dos cuantos. El cuanto es la unidad más pequeña de energía emitida por un átomo. Esta energía es emitida o radiada como fotones idénticos, viajando como una onda coherente. Estos fotones a su vez son entonces capaces de energizar más átomos en una progresión geométrica, que posteriormente produce la emisión de fotones idénticos adicionales, dando lugar a una amplificación de la energía lumínica y produciendo de esta forma un haz láser.⁶¹

En 1960, *Theodor Maiman*, presentó la primera emisión láser con un dispositivo cuyo medio activo era un cristal de rubí sintético estimulado por una lámpara flash. El sistema fue bautizado con el nombre de láser. Desde entonces, la tecnología láser ha sido utilizada en diferentes especialidades de la medicina y cirugía.⁶²

Los tipos de láser se diferencian por el medio activo, que puede ser sólido (diodo), gaseoso (CO₂) o líquido. Por tanto, para obtener emisión láser se requiere de un elemento de la tabla periódica de Mendeleiev, en su estado puro o combinado y recibe el nombre de medio activo. Éste, es estimulado para conseguir la emisión estimulada de fotones. El medio activo se introduce en una caja o tubo cerrado con dos espejos en sus extremos y en la que se produce la estimulación de fotones dando como resultado la radiación láser, que no es más que una transformación de energía desorganizada en organizada.⁶³

La luz es una forma de energía electromagnética que existe como una partícula y que viaja en ondas a una velocidad constante. La unidad básica de esa energía radiante se denomina fotón. Las ondas de fotones viajan a la velocidad de la luz y se pueden definir por dos propiedades básicas: *amplitud* y *longitud de onda*. La *amplitud de onda* es la altura vertical de la onda desde el eje cero hasta su máximo mientras se mueve alrededor de su eje. Guarda relación con la magnitud de la intensidad de la onda. A mayor amplitud, mayor es la cantidad de trabajo potencial que se podría llevar a cabo. Y la *longitud de onda* es la distancia horizontal entre dos puntos cualesquiera correspondientes de la onda. Esta medida es importante tanto para la forma en la que se administra la luz del láser en la zona quirúrgica como para la forma con la que interactúa con el tejido.⁶⁰

La luz del láser es *monocromática* porque genera un haz de un único color, que es invisible si su longitud de onda está fuera de la parte visible del espectro. Además es *unidireccional* y *coherente*. La luz blanca común, es la suma simultánea de todos los colores pero la emisión del láser se obtiene a partir de un medio activo, por lo que los fotones tendrán un mismo origen y propiedades idénticas que generan una luz de una única longitud de onda que en caso de ser visibles serán de un único color. Cabe destacar que la mayoría de los láseres están dentro del área invisible del espectro electromagnético.⁶⁴

La *colimación* o *unidireccionalidad*, es la segunda propiedad de la luz láser. La luz común amplía su proyección a medida que nos alejamos de la fuente de emisión. En cambio, la luz láser no sufre esta distorsión y se mantiene con un diámetro uniforme y constante a pesar de aumentar la distancia desde el punto emisor. La tercera propiedad es *la coherencia*, y es exclusiva de los láseres. En la emisión láser, todas

las ondas lumínicas se propagan en el espacio de forma simultánea, armónica y en fase. Esto quiere decir, que en cualquier punto que se interrumpa la emisión, la constitución física del haz de luz será igual y tendrá una alta concentración energética en todos los puntos.⁶⁵

Los láseres más utilizados en Periodoncia son: CO₂, Nd: YAG, Er, Cr: YSGG y Diodo. Cada uno emite una longitud de onda específica que al interactuar con los tejidos orales producirá diferentes efectos.

El láser de Diodo, se encuentra formado por un medio activo sólido, que cuenta con un semiconductor el cual utiliza una combinación de Galio, Arsenio y otros elementos como el aluminio o el indio, los cuales lograrán transformar la energía eléctrica en energía luminosa.

La longitud de onda emitida por estos láseres para su aplicación en odontología, comprende un rango desde 800 nm hasta 980 nm, llegando a emitirse de forma continua o en pulsátil. La radiación lumínica que emite es pobremente absorbida por la hemoglobina y otros pigmentos.⁶⁶

Las fibras ópticas, pueden variar entre 200, 300 y 600 μm según fabricante. Éstas se ponen en contacto con los tejidos blandos para los procedimientos de ablación, incisión y escisión. Dichas fibras deberán ser preparadas antes del primer uso y varias veces intraoperatoriamente para garantizar la eficacia del láser. Este procedimiento, llamado iniciación, consistirá en depositar un fino pigmento oscuro al final de la fibra llegando a producir el efecto de "hottip" (estado en el que se encuentra el tipo de fibra láser preparado para su uso tras la aplicación del pigmento oscuro). El láser de Diodo, emite un infrarrojo cercano a una potencia comprendida entre 0,5W Y 15W. Debido a que el haz de energía láser puede ser reflejado por instrumentos cercanos a la zona operatoria o incluso por el propio tejido irradiado, se deberán tomar ciertas precauciones debido al riesgo que implica la manipulación de radiaciones visibles o infrarrojas con longitudes de onda que oscilan entre los 400 y 1400 nm; que implican mayor posibilidad de daño retiniano. Por lo que se recomienda utilizar gafas protectoras especiales como medidas de seguridad, tanto para el paciente como para el profesional y el personal de apoyo. Además, para evitar la reflexión, se recomienda utilizar instrumental metálico no pulido o de plástico para este procedimiento.^{60,61}

En función de la potencia que emitan los láseres de diodo, pueden clasificarse en dos grupos: los de baja potencia y los de alta potencia.

- Los **láseres de baja potencia**, son también llamados láseres blandos, de baja energía, y emiten en la región del espectro infrarrojo 632, 670 y 830 nm, con una potencia media de 1-100 mW. Sus aplicaciones se encuentran basadas en los efectos de la bioestimulación de los tejidos y en la acción analgésica antiinflamatoria.
- Los **láseres de alta potencia**, son aquellos láseres con potencias de 1W hasta 15W o más y presentan una longitud de onda comprendida entre 810 nm y 980 nm. Son relativamente nuevos en el campo de la odontología.

La aplicación de la tecnología del láser para el control de enfermedades periodontales se encuentra progresando rápidamente durante los últimos años.⁶¹ Sabemos que los procedimientos que pueden realizarse con este tipo de tecnología son el desbridamiento de las bolsas periodontales y el curetaje de tejidos blandos, además de incisiones y escisiones gingivales.^{67,68} Pero además sirve de gran utilidad para la desinfección de bolsas periodontales. Ya que consiguen eliminar las bacterias anaerobias que contienen.⁶⁹

El láser ofrece un potencial bactericida amplio y sirve para eliminar de forma efectiva las bacterias patógenas de la cavidad oral.^{70,71} El efecto bactericida de la mayoría de los láseres de alto nivel se produce por desnaturalización térmica, ablación directa o destrucción de las células bacterianas.⁷²

En los tratamientos periodontales la aplicación del láser, tiene el objetivo principal, obtener la eliminación completa de todos los depósitos calcificados y bacterianos que se encuentran situados en las superficies radiculares. Pero además, el uso del láser diodo en la terapia fotoactiva como complemento a la terapia básica periodontal, llega a presentar un papel preventivo contra la recolonización subgingival de microorganismos. Por lo que presenta excelentes resultados. Logrando incluso a eliminar el 95% de *Acti-*

nomycetem Comitans, *Fusobacterium Nucleatum* y entre el 99-100% de bacterias negropigmentadas como la *Porphyromonas Gingivalis* y *Prevotella intermedia* y *S. sanguis*.⁶⁹

A lo largo de los últimos años se ha desarrollado una nueva fototerapia no invasiva para la eliminación bacteriana llamada terapia fotodinámica.^{73,74, 75}

9.2 Mecanismo de acción de la Terapia Fotodinámica:

La terapia fotodinámica, fue introducida en la medicina en 1904 por accidente y se aplicó para los estadios tempranos de neoplasias. Se fundamenta en la unión de un fotosensibilizador (sustancia fotoactivable) a una célula diana y su activación mediante luz con una longitud de onda concreta. Tras la activación del agente fotosensibilizador se produce oxígeno y otras sustancias reactivas que actúan de forma citotóxica.^{61,67-69} Por si solos, el fotosensibilizador y la luz no desencadenan efectos citotóxicos eficientes sobre las células bacterianas. El fotosensibilizador se aplica principalmente de forma tópica sobre las áreas afectadas y puede activarse con luz láser con una longitud de onda específica.

El mecanismo de acción bactericida de la terapia fotodinámica a nivel molecular, puede explicarse por medio de los mecanismos potenciales distintos. Uno de ellos produce un daño sobre el ADN y el otro un daño sobre la membrana citoplasmática de las bacterias.⁷⁶ No obstante, existen indicios acerca de que el efecto antibacteriano está provocado principalmente, por el daño en la membrana citoplasmática.

Tras la radiación con luz láser con una longitud de onda específica, el fotosensibilizador pasa a un estado activado, desde el que puede reaccionar con las moléculas circundantes. En este estadio de la terapia fotodinámica es cuando se originan los productos citotóxicos.^{77,78}

El fotosensibilizador activado puede reaccionar con las biomoléculas circundantes de dos maneras diferentes:

- Una de ellas provoca una reacción de transferencia de electrones entre el fotosensibilizador activado y las moléculas de las células circundantes, liberando radicales libres. Estos ra-

dicales libres son altamente reactivos e interaccionan con moléculas endógenas de oxígeno, lo que repercute en la producción de derivados del oxígeno altamente reactivos, como superóxidos, hidroxilos y peróxido de oxígeno, que dañan la integridad de las membranas celulares bacterianas causando daños biológicos irreversibles.^{79,80}

- La segunda vía de reacción produce una interacción del fotosensibilizador con el oxígeno, que resulta altamente reactivo. Este oxígeno se llama *oxígeno singlete* y su reactividad química le permite interactuar con un gran número de sustancias biológicas. Esta reactividad desencadena daños oxidativos y efectos letales en las bacterias, debido al daño de las membranas y paredes celulares.^{77,80} La supervivencia del oxígeno singlete en sistemas biológicos es muy corta (< 0,4 ms) y su radio de acción (0,02 µm) es muy limitada.⁸¹

Debido a lo reducido del radio de migración, el área de acción de la terapia fotosensible se limita directamente a la localización del fotosensibilizador.⁸² No obstante, el fotosensibilizador también tiñe el tejido gingival circundante. El efecto fototóxico sobre el tejido circundante de muchos fotosensibilizadores sigue siendo poco claro.⁷⁵ Los efectos citotóxicos de la terapia fotodinámica parecen desencadenarse principalmente por el oxígeno singlete.^{73,75}

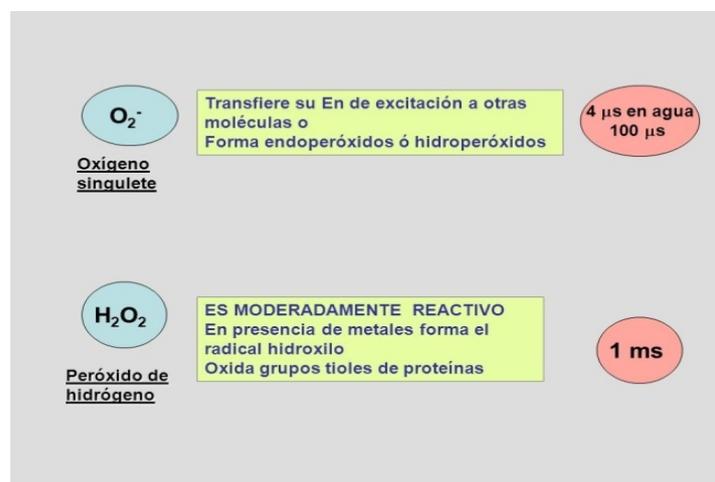


Tabla 6: Vías de reacción del agente fotosensibilizador activado. www.sepa.es

9.3 Agentes Fotosensibles:

En la terapia fotodinámica se emplean distintos colorantes a modo de fotosensibilizadores, tales como el azul de toluidina O, el azul de metileno (cloruro de fenotiazina), la eritrosina, la clorina e6 y la hematoporfirina.

El colorante de fenotiazina, es una sustancia fotosensible que se emplea en el ámbito médico principalmente. Tanto de azul de metileno como el azul de toluidina O, han demostrado tener características fisicoquímicas muy similares. Tiñen de color azul violáceo los gránulos de los mastocitos, los proteoglicanos y los glicosaminoglicanos del tejido conectivo. El azul de metileno es un indicador redox de color azul en un entorno oxidativo y pierde su color tras la reducción.^{67,68}

Tanto el azul de toluidina como el azul de metileno, han demostrado ser dos agentes fotosensibilizadores muy efectivos en la inactivación de bacterias periodontales patógenas tipo Gram positivo y Gram negativo.⁸³⁻⁸⁴⁻⁸⁵ Aunque las bacterias Gram negativas parecen ser más resistentes a la terapia fotodinámica debido a la conformación de la membrana.^{73,86}

Estos dos colorantes fotosensibilizantes son los dos más usados en el tratamiento de periodontitis y periimplantitis. Pero también existe otro tipo de agente fotosensible como es la *indocianina verde*.

La Indocianina verde también se utiliza como medio de contraste. Como su nombre indica, es de una fluorescencia de color verdosa, con un pico de absorción de 800 nm. Carece de toxicidad. Posee elevada absorción, tiñe los tejidos gingivales circulares, al igual que los otros agentes, aunque se elimina rápido, no tiene efecto fototóxico y posee buena fotosensibilidad.

Además, se une a las estructuras lípido-proteicas de las membranas celulares produciendo así la foto-oxidación.

En la actualidad, la activación de fotosensibilizadores se logra con fuentes de luz distintas. En el láser de diodo se activa con una longitud de onda de entre 830 a 906 nm. Para la terapia fotodinámica, no

se necesita un láser de alto nivel, dado que los láseres suaves alcanzan el efecto bactericida deseado. Es más, hasta la fecha no existen investigaciones sobre la combinación más efectiva de las longitudes de onda y fotosensibilizadores, su concentración óptima y tiempo de actuación, la dosis óptima de energía del láser y la duración de la radiación.

Se sabe que el crecimiento y supervivencia de diversas bacterias anaerobias en un ecosistema depende, entre otros factores, de un bajo potencial redox, por lo que una alternativa de tratamiento controlado podría consistir en una alteración del potencial redox (Eh) en la región subgingival.⁸⁷ Los potenciales redox bajos como por ejemplo - 300mV se hallan en las bolsas periodontales, permitiendo la supervivencia de las bacterias anaerobias. Y el potencial redox (Eh) de + 70 Mv se relaciona con un surco gingival sano. Por lo tanto, aumentando el potencial redox de la bolsa periodontal, podría crearse un ambiente incompatible con el crecimiento de los periodontopatógenos anaerobios, permitiendo el control de dichos microorganismos.^{88,89}

La modificación del Eh podría hacerse a través de la variación de Eh mediante el uso de sustancias que son capaces de aumentar el voltaje.

9.4 Terapia fotodinámica y periodontitis:

Se han realizado numerosos ensayos in vitro cuyos resultados apoyan la efectividad de la TFDA. *Dobson y Wilson,*⁹⁰ mostraron ya hace algunos años que la radiación de azul de Toluidina O y azul de metileno con un láser suave de helio-neón actuaba de forma bactericida sobre las *Porphyromonas Gingivalis*, *Fusobacterium Nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, y *S sanguis*.

*Wilson y cols,*⁹¹ demostraron que la terapia fotodinámica se lograba combinando el azul de Toluidina O con un láser de helio- neón.

*Bhatti y cols,*⁹² demostraron que la concentración era más efectiva del láser helio-neón sobre la *Porphyromonas gingivalis*. Además, con la microscopía de transmisión de electrones demostraron que la acción bactericida, se desencadenaba por la destrucción de las proteínas en la membrana externa de la bacteria.

*Matevski y cols,*⁹³ demostraron que incluso la luz convencional combinada con azul de toluidina O desencadenaba los mismos efectos bactericidas que la luz láser.

*Soukos y cols,*⁹⁴ mostraron que la terapia fotodinámica con una unión catiónica de poli- L-LISINA y clorina e 6 ejercía acción más efectiva contra la *Porphyromonas gingivalis* son causar daños epiteliales, mientras que con uniones aniónicas no podía lograrse la eliminación bacteriana. Además, estos mismos autores apuntaron que la terapia fotodinámica con poli-L-Lisina y clorina e6 y el láser de diodo ejercía una acción bactericida sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Demostraron que las bacterias de las capas más profundas de la Biopelícula se destruían por la penetración del fotosensibilizador.⁹⁵

La valoración de un gran número de ensayos in vitro pone de manifiesto la efectividad de la terapia fotodinámica en relación a la actividad bactericida. Lo que no ha podido aclararse de forma concluyente es la combinación más efectiva de longitudes de onda y fotosensibilizadores y cuáles son los ajustes óptimos de diferentes parámetros como son la concentración de fotosensibilizador, tiempo de exposición, energía de láser y duración de la radiación.

Diversos factores como la susceptibilidad bacteriana o el epitelio gingival, pueden modificar la efectividad del tratamiento de la terapia fotodinámica en la periodontitis.

La susceptibilidad a la destrucción de bacterias por la terapia fotodinámica es diferente entre las especies Gram positivas y Gram negativas. Las bacterias Gram positivas son más susceptibles a la fotoactivación que las bacterias Gram negativas debido a la mayor complejidad de su membrana externa que dificulta el acceso del agente fotosensibilizador a los sitios diana internos.⁹⁶

Sin embargo, la susceptibilidad de las bacterias Gram negativas puede mejorarse bien, modificando la permeabilidad de su membrana celular, o bien mejorando la captación selectiva del agente fotosensibilizante por las bacterias.

En el primer caso, la unión del agente fotosensibilizador a una molécula policatiónica (poli-L-lisina-cloro, polixina B nona péptido) o el uso conjunto con agentes tensioactivos como es el tris-EDTA (tris-ácido atilendiaminotetraacético), desorganiza la estructura de la membrana celular incrementando su permeabilidad.⁹⁷

Otra posibilidad consiste en la conjugación del agente fotosensibilizador a los anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos de superficie celular específicos. En el segundo caso, la captación selectiva del agente fotosensibilizante por la bacterias se puede mejorar mediante la conjugación de diversos péptidos. En este sentido, el conjugado de poli- L- lisina (pL)-cloro e6 destruye la porphyromonas gingivalis son afectar la viabilidad de las células epiteliales.⁹⁸

Otro factor consiste en el propio epitelio del área dentogingival que, si bien actúa como una barrera primaria para la invasión de estímulos nocivos, también puede actuar como una barrera para la penetración de los agentes fotoactivadores. Sin embargo, el epitelio del surco, muestra una mayor penetración debido a su falta de queratinización.⁹⁹

Respecto a los beneficios que aporta la terapia fotodinámica como tratamiento coadyuvante en la periodontitis, los resultados descritos en la actualidad no son concluyentes. En varios ensayos clínicos se describe que la terapia fotodinámica induce una mejoría de los parámetros clínicos de profundidad de sondaje,^{100, 101} nivel de inserción clínica y sangrado al sondaje.^{102,103} En cambio otros estudios no observan diferencias entre los grupos test y control.^{104,105}

En cuanto al impacto de la terapia fotodinámica sobre parámetros bacterianos *Theodoro y cols.*,¹⁰⁶ obtuvieron una disminución significativa del porcentaje de sitios positivos para bacterias periodontopató-

genas, pero la mayoría de estudios aleatorios^{105, 107} controlados han obtenido resultados negativos al comparar grupo test y control.^{108,109}

Por último respecto a los parámetros bioquímicos, también existen estudios que han obtenido resultados favorables en el grupo test y otros como el de *Gómez y cols*,¹⁰⁹ que no obtuvieron diferencias entre los grupos.^{103,104,106,110,111}

En el apartado siguiente, tablas 8 y 9, se recoge una relación pormenorizada de los distintos estudios referentes a la terapia fotodinámica que existen en la bibliografía científica revisada y que guardan una estrecha relación con el desarrollo de nuestro estudio.

Siglas:

- Nm: Nanómetro.
- mW: Milivaltios.
- Cloruro de fenazationio: Azul de metileno.
- Cloruro de Tolonio: Azul de metileno.
- λ : longitud de onda.
- PS: profundidad de sondaje.
- CAL: Nivel inserción clínica.
- SS: Sangrado al sondaje.
- Er-YAG: Erbium-doped yttrium aluminium garnet.
- TSP: Terapia de soporte periodontal.
- PTF: Potasio-titanilo-fosfato.

A continuación se hace un resumen sobre los artículos revisados bibliográficamente, de mayor interés para el estudio a realizar. Quedan recogidos en las siguientes Tabla 7 y Tabla 8.

Tabla 7: Estudios realizados de terapia fotodinámica en los últimos años.

<i>AUTOR Y AÑO</i>	<i>Nº DE PACIENTES</i>	<i>DURACIÓN</i>	<i>DISEÑO DEL ESTUDIO</i>
Yilmaz y cols. (2002) ¹⁰⁴	10	32 días	Boca partida. 1-RAR, 2-TFD, 3-RAR+TFD, 4-IHO
Andersen y cols. (2007) ¹¹²	33	3 meses	Grupos paralelos 1-TFD, 2-RAR, 3-RAR+TFD
Christodoulides y cols. (2008) ¹⁰⁸	24	6 meses	Grupos paralelos 1-RAR+ TFD, 2-RAR
Braun y cols. (2008) ¹⁰¹	20	3 meses	Boca partida 1-RAR, 2-RAR + TFD
Sigusch y cols. (2010) ¹¹³	45	3 meses	Grupos paralelos RAR + Cloruro de Fenazationio 1-no láser 2- si láser
Gómez y cols. (2011) ¹⁰⁹	33	2 meses	Grupos paralelos 1-RAR, 2-RAR +TFD 3-RAR+ Er:YAG
Theodoro y cols. (2012) ¹⁰⁶	22	6 meses	Boca partida 1-RAR, 2-RAR + Cloruro de tolonio 3- RAR + TFD
Berakdar y cols. (2012) ¹¹⁴	22	6 meses	Boca partida (2 dtes) 1-RAR, 2-RAR + TFD
Campos y cols.(2013) ¹⁰²	13	3 meses	Boca partida 1-RAR 2- RAR + TFD
Dilsiz y cols (2013) ¹¹⁰	24	6 meses	Boca partida 1-RAR, 2-RAR +TFD 3- RAR+TFD
Alwaeli y cols. (2013) ¹⁰⁵	16	12 meses	Boca partida 1-RAR, 2-RAR+TFD

Pourabbas y cols. (2014) ¹¹¹	22	3 meses	Boca partida. 1-RAR, 2-RAR + TFD
Franco y cols.(2014) ¹⁰³	15	3 meses	Boca partida 1-RAR, 2-RAR + TFD
Betsy y cols.(2014) ¹⁰⁰	88	6 meses	Grupos paralelos 1-RAR, 2-RAR+TFD
Carvalho y cols (2015) ¹⁰⁷	34	12 meses	Grupos paralelos 1-RAR, 2-RAR+TFD

Tabla 8: Estudios realizados en los últimos años sobre terapia fotodinámica.

λ Y POTENCIA DEL LÁSER	FOTOSENSIBILIZANTE	PARAMETROS CLÍNICOS	PARÁMETROS MICRO-BIOLÓGICOS	PARÁMETROS BIOQUÍMICOS
685 nm 30 Mw (6 aplicaciones)	Cloruro de Fenazatio- nio (enjuague)	NO	NO	-----
670 nm 150 mW 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	PS, CAL resto NO	-----	-----
670 nm 75 Mw 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	SS Resto NO	NO (cultivo microbiológico)	-----
660 nm 100 Mw 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	SI recesiones NO	-----	-----
660 nm	Cloruro de Fenazatio-			

60 mW/cm ²	nio (irrigación en bolsa)	SI recesiones NO	-----	-----
670 nm 200 mW 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	NO	NO	NO
600 nm 30 mW 1 aplicación	Cloruro de Tolonio (irrigación en bolsa)	NO	SI	-----
670 nm 150 mW 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	PS Resto NO	-----	-----
660 nm 60 mW 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	SI	-----	-----
808 nm 100 mW 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	NO	-----	-----
660 nm 100 mW 1 aplicación	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	SI	-----	-----
638 nm 8-10 J/cm ² 1 aplicación	Cloruro de Tolonio (irrigación en bolsa)	NO	-----	resto NO
660 nm 60 mW/cm ² 4 aplicaciones	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	SS Resto NO	-----	NO histología PCR
655 nm 1 w (1 aplicación)	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	PS, CAL, resto NO	-----	-----

660 nm 40 Mw (4 aplicaciones)	Cloruro de Fenazatio- nio (irrigación en bolsa)	NO	NO	-----
----------------------------------	---	----	----	-------

La heterogeneidad en la metodología utilizada en cada estudio: número de pacientes, duración y diseño del estudio, parámetros del láser de diodos (longitud de onda y potencia, el tipo de agente fotosensibilizante y número de aplicaciones de la terapia fotodinámica), puede ser el motivo por el que los resultados no sean concluyentes en cuanto a la mejora que pueda aportar la terapia fotodinámica en el tratamiento de la periodontitis.

10. Justificación:

La enfermedad periodontal es un proceso causado por las bacterias de la placa dental. Sabemos que su presencia es necesaria, pero no suficiente, para desarrollar la respuesta inflamatoria. Así como que el control de la placa dental es la base del tratamiento periodontal.

El tratamiento básico periodontal, esto es, el raspado y alisado radicular, sigue siendo el patrón a seguir para eliminar mecánicamente la placa y ese cálculo de la superficie dental y así obtener una superficie radicular biológicamente compatible con una nueva inserción. Si los resultados no fueran satisfactorios, se recurre a la cirugía periodontal.

Se han visto tratamientos que ayudan a mejorar los resultados del tratamiento básico periodontal y poder evitar, no en todas las ocasiones, esa cirugía periodontal. Uno de esos tratamientos es el uso de antibióticos a nivel sistémico. Pero existen resistencias y efectos adversos en ellos, además del incumplimiento por parte del paciente en la toma administrada de ellos, que han hecho que se promueva la búsqueda de terapias antimicrobianas alternativas.¹¹⁵

Una de ellas, es la terapia fotoactiva o fotodinámica. La Terapia fotoactiva a base del uso del láser de diodo se ha convertido en un método de tratamiento antibacteriano usándose en conjunto contra la en-

fermedad periodontal, debido a que el laser de diodo se encuentra constituido por un medio activo sólido, formado por un semiconductor que transforma la energía eléctrica en energía luminosa.^{116 117 118}

Los láseres en odontología, se utilizan desde hace más de dos décadas para eliminar tejido blando. Y el laser de Diodo usado como terapia fotoactiva, se ha visto que es capaz de eliminar un amplio rango de microorganismos, incluyendo bacterias, virus y levaduras.¹¹⁹ Además, el uso del láser diodo tiene gran utilidad en la desinfección de las bolsas periodontales. Ya que consigue eliminar las bacterias anaerobias que estas contienen. Además de presentar un papel preventivo contra la recolonización subgingival de microorganismos.¹²⁰

A pesar de que sea una alternativa en el tratamiento de la enfermedad periodontal, no existe un acuerdo en la actualidad sobre cuáles son las características técnicas que conduzcan a una mayor efectividad en el tratamiento. Los estudios realizados no presentan homogeneidad. Por lo que serán necesarios más estudios que verifiquen la utilidad de la terapia fotoactiva como tratamiento coadyuvante efectivo del cual se obtengan resultados significativos.

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS.

HIPÓTESIS:

La enfermedad periodontal está muy presente a nivel mundial, aunque los grados avanzados afectan a un pequeño porcentaje de la población. Sabemos que para combatir esta enfermedad, el tratamiento o terapia debe ir conducida hacia la eliminación con posterior control de los Biofilms presentes en la placa dental y además debemos combatir y modificar los factores que influyen a nivel personal en cada uno de nuestros pacientes. Así como evitar futuras recidivas.

Para controlar estos Biofilms, el tratamiento realizado se basa en el control mecánico de la higiene bucal, esto es, cepillado, hilo o seda dental, higiene interproximal y sistemas de control químico como coadyuvante del control mecánico. Pero además, cuando existe una pérdida del nivel de inserción causado por la enfermedad periodontal, se recurren a tratamientos básicos periodontales. Esto es, el raspado y alisado radicular.

A pesar de que estas terapias son efectivas, existen limitaciones, como la incapacidad de eliminar los patógenos periodontales o la capacidad de evitar la recolonización de los mismos. Además de las resistencias que se dan por el uso abusivos de antibióticos en la actualidad.

En este estudio, nos centramos en evidenciar si la terapia fotoactiva puede mejorar los parámetros microbiológicos y clínicos con respecto al raspado y alisado radicular.

La hipótesis de este estudio se basa en que el tratamiento de la enfermedad periodontal en pacientes con periodontitis crónicas se realiza mediante raspado y alisado radicular con el objetivo de controlar el Biofilm. Este tratamiento coadyuvado por la terapia fotodinámica mejora los resultados desde el punto de vista de las variables clínicas y microbiológicas.

CAPÍTULO III: OBJETIVOS.

OBJETIVOS:

OBJETIVO PRINCIPAL:

Evaluar el efecto del tratamiento de la terapia fotodinámica en pacientes con periodontitis crónica generalizada, frente a los tratamientos de raspado y alisado radicular y láser.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Analizar la variación cuantitativa de la flora microbiana periodontal con los distintos tratamientos.
2. Valorar la evolución de los parámetros clínicos según los tratamientos.
3. Evaluar el uso coadyuvante del tratamiento de láser como efecto potenciador, al tratamiento de raspado y alisado radicular.

CAPÍTULO IV: MATERIAL Y MÉTODO.

MATERIAL Y MÉTODO:

1. DISEÑO:

Estudio cuasi experimental controlado con tres tratamientos distintos. Tratamiento raspado y alisado radicular, tratamiento de láser y tratamiento de terapia fotodinámica. Se trata de un estudio con asignación no aleatoria de los distintos tipos de tratamientos, siempre en función de la clínica del paciente y de nuestro propio criterio clínico.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Las personas seleccionadas para este estudio eran personas que acudieron de pacientes a la Clínica Universitaria Ceu San Pablo y a las clínicas "Asisa dental" en Madrid.

El estudio se realizó mediante la toma de parámetros clínicos periodontales y de muestras de fluido Crevicular procedentes de estos pacientes odontológicos durante el año 2015-2016.

Los pacientes fueron diagnosticados como pacientes con periodontitis crónica moderada-avanzada y cumplieron los criterios de inclusión y exclusión determinados. El protocolo se realizó en completo acuerdo con los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki de 1975, en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y cumple los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bio-ética.

3. CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Los datos de los criterios de inclusión y exclusión fueron establecidos y se obtuvieron del historial médico del paciente y exploración bucal, además de exploración a nivel periodontal (Periodontograma).¹²¹

Criterios de inclusión:

Se consideraron como ***criterios de inclusión*** los siguientes:

1. Pacientes de ambos sexos, con edades comprendidas entre los 35 y 65 años con periodontitis crónica moderada o avanzada clasificado según el Sistema de Clasificación de Enfermedades y condiciones periodontales.¹¹⁹ El paciente debe presentar una afectación periodontal de al menos el 30% y una pérdida de inserción igual o superior a 3 mm, siendo moderada= 3-4mm, avanzado= ≥ 5 mm).^{120 121}
2. Paciente no fumador.
3. Presencia de al menos 4 dientes por cuadrante con bolsas de ≥ 4 mm y sangrado al sondaje de al menos dos cuadrantes de la boca.
4. Paciente dispuesto a seguir las directrices del estudio y que adquiera el compromiso de la continuidad del tratamiento.
5. Consentimiento informado por escrito.

Criterios de exclusión:

Se consideran ***criterios de exclusión*** los siguientes:

1. Antecedentes de tratamiento periodontal previo en los últimos seis meses.
2. Pacientes embarazadas o en lactancia.

3. Pacientes con enfermedades sistémicas (diabetes/alteraciones hormonales, inmunológicas o congénitas) o con necesidad de profilaxis antibiótica.
4. Pacientes que tomen medicamentos capaces de poder modificar la respuesta clínica o inmunológica del huésped.
5. Pacientes con tratamiento antibiótico o quimioterapia.

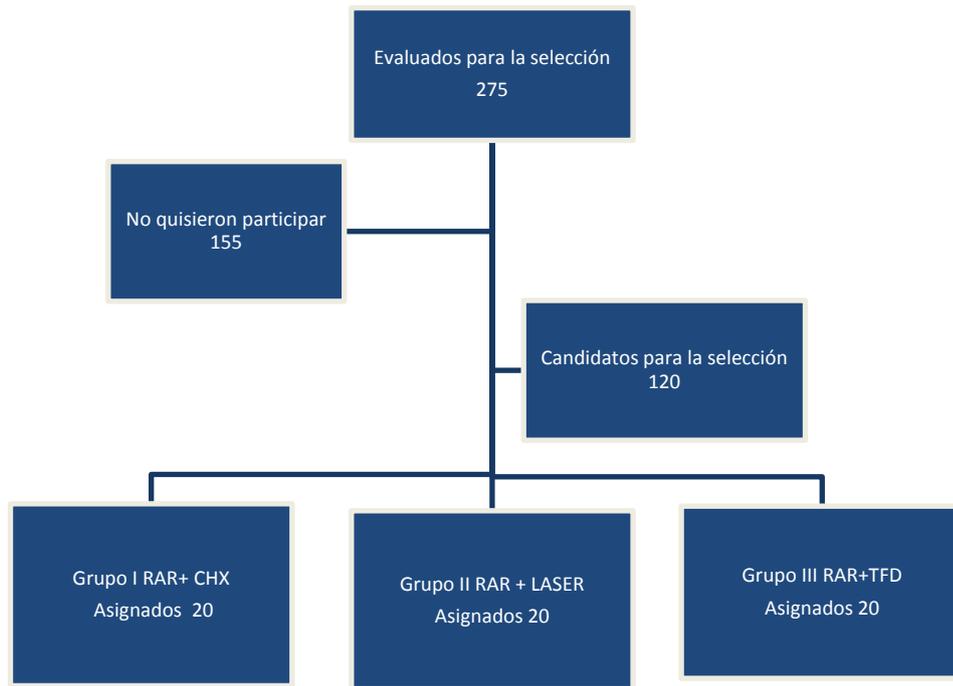
4. MUESTREO Y TAMAÑO MUESTRAL:

Se trata de un muestreo consecutivo no probabilístico con asignación no aleatoria a los tratamientos a estudio. La elección del tratamiento se efectuó por criterios clínicos, teniendo en cuenta el grado de enfermedad periodontal.

Se estudió las historias clínicas de los pacientes. Se seleccionó un grupo de 275 personas que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión. Se les explicó en qué consistía el estudio. De todas esas personas, no quisieron incluirse en el estudio 155. Quedaron 120 pacientes. De ese número, se fueron reclutando los primeros 20 pacientes hasta completar los tres grupos de tratamientos. El grupo I, correspondió a 20 personas que recibió tratamiento periodontal básico correspondiente a un raspado y alisado radicular con irrigación de un antiséptico como es la clorhexidina. El grupo II, se asignó a 20 personas que recibieron el tratamiento periodontal básico (raspado y alisado radicular) pero además fueron sometidos a una aplicación de tratamiento de láser. El grupo III, fue para los pacientes con periodontitis crónica que recibieron tratamiento básico con el de terapia fotodinámica.

Las fases de estudio quedan resumidas en el diagrama de a continuación procedente a la Tabla 9 del anexo.

Tabla 9: Diagrama fases estudio.



Con los resultados obtenidos se procedió posteriormente al cálculo del tamaño muestral definitivo por si hubiera que incrementarlo.

5. VARIABLES A ESTUDIO:

A. Variables independientes:

- **Tratamiento:** *Variable politómica* de tres categorías.
 1. Raspado y alisado radicular. (GRUPO CONTROL).
 2. Raspado y alisado radicular con tratamiento de láser. (LÁSER).
 3. Raspado y alisado radicular con terapia fotodinámica. (TFD).
- **Tiempo:** *Variable politómica* de tres categorías.
 1. Basal.
 2. Cuatro semanas.
 3. Ocho semanas.

B. Variables dependientes:

Índice de placa: *Variable politómica* de cuatro categorías. Mide el grosor de la placa bacteriana depositada sobre la superficie del borde gingival de todos los dientes presentes en la boca.¹²² La puntuación de la placa se califica según la escala:

0: Sin placa en la zona gingival.

1: Una película de placa adherida al margen gingival libre y el área adyacente al diente. La placa puede ser vista *in situ* sólo después de la aplicación de un revelador o mediante el uso de la sonda sobre la superficie del diente.

2: Acumulación moderada de depósitos blandos en la bolsa periodontal, en el diente o en el margen gingival, que pueden ser apreciados a simple vista.

3: Mucha materia blanda, gruesa de 1 a 2 mm dentro de la bolsa periodontal y/o sobre el diente y el margen gingival.

Profundidad de sondaje: *Variable cuantitativa* continua medida en milímetros. Es la distancia en milímetros entre el margen gingival y el fondo de la bolsa periodontal.

Sangrado al sondaje: (SS). *Variable politómica de cinco categorías.* Se calcula según las puntuaciones de la escala full mouth bleeding score (FMBS).¹²³ Después de comprobar la profundidad del sondaje se mide el sangrado asignando los siguientes valores:

Valor 0: Cuando no hay sangrado. **(0).**

Valor 1: Si hay sangrado. No existe cálculo ni bolsas. **(1).**

Valor 2: Sangrado y cálculo supragingival y subgingival. Bolsas. Zona oscura. Sonda completamente visible. **(2).**

Valor 3: Sangrado y cálculo supra y subgingival. Bolsas. Zona de la sonda más o menos visible. **(3)**.

Valor 4: sangrado y cálculo supra y subgingival. Bolsas profundas. La sonda no es visible. **(4)**.

Todo esto después de 30 segundos de haber realizado el sondaje.

Recesión clínica: *Variable cuantitativa continua medida en milímetros.* Desplazamiento apical del margen gingival con respecto al límite amelocementario, dejando la superficie radicular expuesta.

Nivel de inserción clínica: *Variable cuantitativa continua medida en milímetros.* Distancia en milímetros entre la línea amelocementaria y el fondo de la bolsa o surco.

Grado de movilidad dental: *Variable politómica* de cuatro categorías. Desplazamiento de la corona producido por pérdida de inserción y/o trauma oclusal. Se realiza con la ayuda de dos instrumentos de extremos romos apoyados por las caras vestibulares y linguales/palatinas de cada diente presionando en una dirección y otra.¹²⁴ El grado de movilidad dental se gradúa así:

Grado 0: (0) Movilidad fisiológica del diente.

Grado I: (1) Aumento de movilidad del diente de hasta 1mm en dirección horizontal.

Grado II: (2) Aumento movilidad dental > 1mm sentido horizontal.

Grado III: (3) Movilidad excesiva tanto en dirección horizontal como vertical.

Grado de afectación de furca: *Variable politómica de tres categorías.* Parámetro que clasifica las lesiones de la furca cuantitativamente según el grado de afectación del hueso furcal en dientes multirradi-
culares.¹²⁵ Así queda dividida en las siguientes categorías:

Grado I: (1) El nivel de pérdida ósea permite la inserción de la sonda periodontal de Nabers en la concavidad del tronco radicular. El defecto de furca es inferior a 3 mm en sentido horizontal.

Grado II: (2) El nivel de pérdida ósea permite la inserción de la sonda en la zona de bifurcación entre las raíces. El defecto de furca es al menos 3 mm en sentido horizontal, pero todavía existe algo de hueso interradicular unido en el ángulo de la bifurcación.

Grado III: (3) El nivel de pérdida de hueso permite atravesar con la sonda de Nabers la furca en su totalidad. Esto es, de vestibular a lingual en molares inferiores y de vestibular a mesio-palatino y disto-palatino en superiores.

- **Aggregatibacter actinomycetemcomitans. (Aa):** Variable politómica de cuatro categorías según número de bacterias. La hemos categorizado de la siguiente forma:

1. De 0 a 20.000.
2. >20.000-40.000.
3. >40.000- 60.000.
4. >60.000-80.000.

- **Porphyromonas gingivalis. (Pg):** Variable politómica de cuatro categorías. Atendiendo al número de microorganismos. Están categorizadas en:

1. De 0 a 10 millones de bacterias.
2. >10 millones – 20 millones.
3. >20 millones a 30 millones.
4. >30 millones a 40 millones.

- **Tannerella forsythia. (T.f):** Variable politómica de cinco categorías:

1. De 0 a 20 millones de bacterias.
2. De >20 millones a 40 millones.
3. De > 40 millones a 60 millones.
4. De >60 millones a 80 millones.
5. De >de 80 millones a 100 millones.

- **Prevotella intermedia. (P.i):** *Variable politómica* de cuatro categorías:
 1. De 0 a 20 millones de bacterias.
 2. De >20 millones a 40 millones.
 3. De >40 millones a 60 millones.
 4. De >60 millones a 80 millones.

- **Treponema denticola. (T.d):** *Variable politómica* de tres categorías. Se establecieron estas categorías según número de bacterias :
 1. De 0 a 100.000.
 2. De >100.000 a 200.000.
 3. De >200.000 a 300.000.

C. Control y Sociodemográfico:

- **Edad:** *Variable cuantitativa* discreta en años cumplidos.
 - **Sexo:** *Variable dicotómica*.
 1. Hombre.
 2. Mujer.
-
- **Edad:** *Variable politómica* de tres categorías:
 1. 35- 45 años.
 2. 46-55 años.
 3. 56-65 años.

6. MATERIAL PARA MEDIR LAS VARIABLES:

Tratamiento periodontal:

Raspado y alisado radicular:

- Kit de exploración: Sonda de exploración, espejo y pinzas de exploración.
- Jeringa de anestesia Uniject k. Normon®.
- Anestesia local Ultracaín® (Articaína hidrocloreuro con epinefrina 40/0,01 mg/ml, Normon®, Madrid, España).
- Agujas anestesia Octoplus. Clarben. REF LC01-018.
- Hurracaine gel. Anestésico tópico. Benzocaína al 20%.
- Ultrasonidos PerioScan. Sirona.
- Periosonic Sirona. REF 59 13 509.



Ilustración 7: Ultrasonidos PerioScan® utilizado durante el estudio.

- Punta de ultrasonido SIROPERIO 1: Filigrana recta. Para la irrigación y limpieza de raíces en bolsas profundas. REF. 60 44 825.
- Punta de ultrasonido SIROPERIO 2: Filigrana curvada a la derecha. Útil en limpieza de raíces en bolsas de dientes posteriores. REF 60 44 833.

- Punta de ultrasonido SIROPERIO 3: Filigrana curvada a la izquierda. Útil para la limpieza de raíces en bolsas profundas en dientes posteriores. REF. 60 44 841.
- Curetas Gracey #3-4, #5-6, #7-8, #11-12 y #13-14. Curetas American Eagle Cureta Montaña Columbia. Marca Bontempi®.



Ilustración 8: Sonda periodontal y Curetas Gracey utilizadas durante el estudio.

- Sonda periodontal CP11. Asa dental.
- Sonda periodontal HU-FRIEDY®.
- Sonda Nabers #2 mango#7 HU-FRIEDY®.
- Antiséptico de clorhexidina al 0,2% Periokin®.

Terapia fotodinámica y Agente Fotosensibilizante:

- Agente fotosensibilizante EmunDo®. Comercializado por Sweden&Martina. Fabricado por A.R.C Láser. Alemania.
- Laser diodo Fox. A.R.C Láser. Alemania.
- Punta manípulo láser Fox (REF. HS11014).
- Fibra óptica radial Láser Fox. (Cód. nº LL13041).
- Fibra desnuda Láser Fox. (Cód. LL13001).



Ilustración 9: Láser diodo Fox y producto fotosensibilizante EmunDo®.

Toma de muestras del fluido Crevicular:

- Puntas de papel nº 30 ó 35 (Densply®, Madrid, España).
- Tubos Eppendorf. (Eppendorf®. Madrid, España).
- Pinzas exploración Asa dental.
- Consentimiento informado laboratorios Origen®. España.
- Hoja de solicitud de estudio Laboratorio Origen®.
- Pinzas exploración, espejo exploración, rollos de algodón para el aislamiento relativo.



Ilustración 10: Material utilizado para la toma de muestras de fluido Crevicular.

Parámetros clínicos y periodontales y exploración radiográfica:

- Sonda CP-11 HU-FRIEDY®. Rotterdam. Países bajos.
- Sonda Nabers #2 mango #7 HU-FRIEDY®.
- Placas radiográficas intraorales DF-58. ULTRA-SPEED. Carestream.

Variables microbiológicas. Reactivos y materiales:

- Kit para extracción de ADN bacteriano: High Pure PCR Template Preparation Kit. Roche-applied-science® Alemania.
- Lisozima. Roche-applied-science®, Alemania.
- Tris-Hcl (ácido clorhídrico) (10mM (milimolar), pH 8.0).
- Isopropanol. Sigma Aldrich®, España.
- Centrifugadora de sobremesa estándar 5415R. Eppendorf®, Canadá.
- Tubos para centrifugadora estériles Fisherbrand. Fisher Scientific®, Estados Unidos de América.

- Vortex TopMix FB15024. Fisher Scientific[®], Estados Unidos de América.
- Nanodrop 2000 y software. ThermoScientific[®], Estados Unidos de América.
- Placa para PCR: Micro Amp[®] optical 384- Well reaction plate with Barcode. Applied Biosystems- Life technologies[®], China.
- Fluorocromo: Fast Star Universal SYBR Green Mater (ROX). Roche-applied science[®]. Alemania.
- Cebadores específicos. TIB MOLBIOL[®], Alemania.
- Agua libre de ADN/ARNasas. Roche-applied-science[®], Alemania.
- Termociclador 7900HT Fast *Real-Time* PCR System y el programa informático Sequence Detection Software. SDS v 2.4; Applied Biosystems[®], Estados Unidos de América.

7. MÉTODO DE MEDIDAS DE VARIABLES:

El protocolo de estudio que se estableció constaba de 5 visitas para cada paciente periodontal.

Primera visita: *Valoración del paciente para su participación en el estudio estableciendo el tratamiento más adecuado.* Una vez fueron recogidos los datos demográficos y de la historia clínica del paciente, se realizó la exploración periodontal. Además todos los pacientes de sometieron a un estudio radiológico previo, basado en una radiografía panorámica y una serie periapical, para determinar la existencia de pérdida ósea presente en la periodontitis y el patrón de pérdida característicos de la periodontitis crónica.¹²¹ Se analizó de nuevo los criterios de inclusión en el estudio. Tras informar al paciente y resolver sus dudas, se firmó un consentimiento de la inclusión en el estudio.

Segunda visita: *Periodontograma. Se registraron todas las variables en su situación basal.* La exploración periodontal se realizó mediante la elaboración de un periodontograma, en el que se recogieron los datos como: número de piezas perdidas, índice de placa, profundidad de sondaje, nivel de inserción clínica, recesión clínica, sangrado al sondaje, grado de afectación de furcas y dientes con movilidad. Además,

todos los pacientes fueron instruidos en el correcto cepillado de los dientes con un cepillo manual (Vitis® medio, Dentaid, España) utilizando la técnica de Bass modificada.¹²⁶ En cuanto a la higiene interdental, se instruyó el uso de cepillos interdentales (Lacer® España) de diferentes tamaños, dependiendo del espacio de la tronera del paciente. Siempre se reforzaron estas instrucciones.



Ilustración 11: Cepillos interproximales y colutorios de clorhexidina Perioaid® al 0.2%.



Ilustración 12: Tamaños de cepillos interproximales marca Lacer® para el estudio.

Tercera visita: Tratamiento. Primera toma de muestra de fluido Crevicular. Situación basal. Se procedió a realizar al paciente el tratamiento asignado en cada grupo. A todos ellos se les realizó tratamiento periodontal básico. Esto es, el RAR.

El raspado y alisado radicular, RAR, es una técnica que se realiza para la eliminación de la placa y del cálculo supra y subgingival. Se realiza mediante el uso de ultrasonidos irrigado con colutorio de clorhexidina al 0,20% y curetas manuales. Cada procedimiento se llevó a cabo bajo anestesia local Ultracáin®.

El uso de ultrasonidos fue realizado a través del aparato *PerioScan, de la casa Sirona*. Se trata de un aparato de ultrasonidos inteligente y sensible que realiza un análisis de la superficie dental contactada mediante el patrón de oscilación de las puntas de ultrasonidos. Estas puntas del ultrasonido entran en contacto con el cálculo dentro de la bolsa periodontal, y el aparato informa al operador mediante un cambio de color de la luz integrada en la pieza de mano o una señal acústica. Así se sabe que hay cálculo; Pues se encenderá en la pantalla del PerioScan una luz azul. Sin embargo, si se encendiera una luz verde, la bolsa estará limpia. La irrigación de este ultrasonido puede realizarse con agua, con cloruro de sodio (NaCl) o con clorhexidina. En este estudio se procedió a la irrigación con clorhexidina al 0,2 % de la marca Periokin®.



Ilustración 13: Ultrasonidos PerioScan utilizado en el tratamiento Grupo I.

Por otro lado, cuando fue necesario el uso de las curetas manuales, se optó por utilizar las curetas Gracey #3-4, #5-6, #7-8, #11-12 y #13-14. Marca Bontempi®.

La sesión terminaba tan pronto como el operador consideraba que había eliminado todo el cálculo y la placa supra y subgingival; en base a la exploración de la superficie radicular con sonda periodontal y visión directa y/o indirecta previo secado de la zona. Además se usó una sonda periodontal calibrada cada 3 mm, para medir una bolsa periodontal. Ésta, debió insertarse suavemente con una presión de 20 a 25 gramos paralela al eje vertical del diente para luego deslizar en circunferencia alrededor de cada superficie del diente para detectar su configuración y las áreas de penetración más profundas. Se sondaron tres puntos por vestibular y tres puntos por palatino o lingual de cada diente. Estas mediciones quedaron registradas en los periodontogramas realizados durante el estudio.



Ilustración 14: Tratamiento de raspado durante el estudio.

En el caso de la terapia fotodinámica, el agente fotosensibilizador utilizado fue la indocianina verde. (Emundo®, Sweden&Martina. A.R.C Laser Alemania). El producto, de color verde fluorescente, se aplicó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Antes de empezar el tratamiento, era oportuno obtener un índice de placa < 50. La aplicación del fotosensibilizador se realizaba introduciendo en la bolsa periodontal una cánula biselada gris. En este momento no debería haber sangrado. Si sobresalía el producto de la bolsa periodontal, se podía aspirar el exceso. El tratamiento láser comenzaba. Se usaba un manípulo de

grandes dimensiones (REF. HS11014) para irradiar una zona amplia a una potencia entre 100 y 400 Mw, según la velocidad de movimiento. El manípulo se movía aproximadamente 30 segundos por cada diente a lo largo de las bolsas periodontales desde lingual a vestibular. Después, se iba desplazando al diente siguiente. Así debía repetirse hasta que el cuadrante coloreado de la indocianina resulte completamente irradiado.



Ilustración 15: Laser Fox y producto Emundo® utilizado para el estudio.

Después se procedía a sustituir el manípulo con la fibra óptica radial (cód. nº LL13041) para proseguir tratamiento. La potencia seleccionada seguía siendo la misma.

La fibra óptica de 300 μm activaba la solución coloreada residual moviéndola dentro de la bolsa gingival durante 30 segundos aproximadamente. La duración total del tratamiento dependía de las zonas tratadas, pero aproximadamente era de 2 a 5 minutos. Posteriormente se extraía el tejido de granulación de dentro de la bolsa utilizando una fibra desnuda con la misma potencia. (cód. LL13001) El Láser de Diodo que se usó para el estudio fue el laser Fox de la empresa alemana A.R.C. se trata de un laser de última tecnología con una potencia máxima de 8 W Y 810 nm.

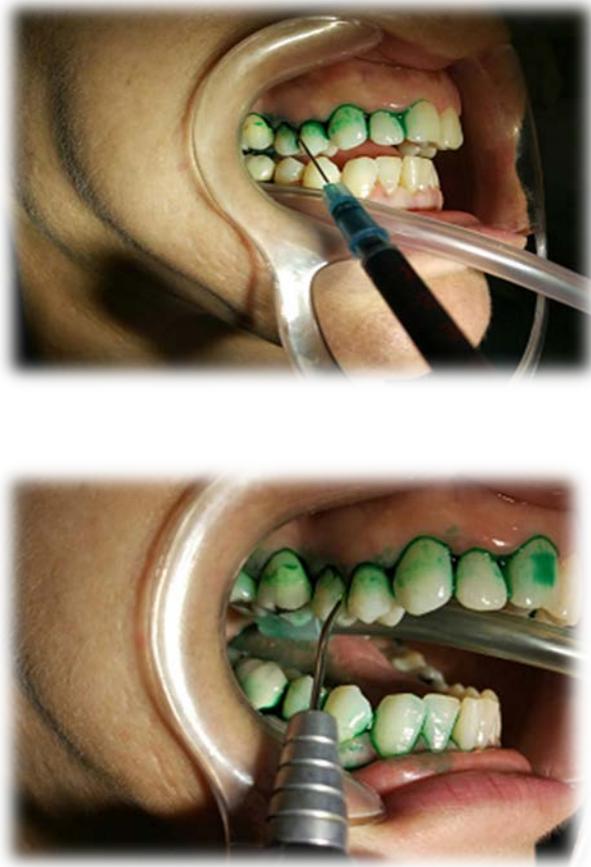


Ilustración 16: Realización del tratamiento de terapia fotodinámica con el agente fotosensibilizador en el grupo III de estudio.

La toma de muestras del fluido Crevicular se realizó en la tercera, cuarta y quinta. Se tomaron 5 muestras de fluido Crevicular, siempre en las mismas localizaciones. Se cogieron con unas puntas de papel de endodoncia estériles del nº 30 o 35 y se tomaron en el interior de las bolsas periodontales más profundas durante un minuto. Por lo que se evitó el contacto con el resto de los tejidos orales. Se retiraron las puntas y se introdujeron en el interior de un tubo tipo eppendorf. Estas puntas, se dejaron secar unos minutos al aire con la tapa abierta del tubo y posteriormente se cerró. Se almacenaron en la nevera a una temperatura de 5 grados.

Ésta fue la única forma de tomar la muestra, aunque se pidiera al laboratorio analizar la cantidad de agentes microbiológicos. Es decir, era el mismo método de toma bien para la detección de bacterias como para valorar el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR).

Con independencia del destino de la muestra, se descartaba si salía manchada de sangre o placa bacteriana. Si esto ocurría, se repetía la maniobra. Ilustración 17.



Ilustración 17: Procedimiento de toma de muestras de fluido Crevicular a las 4 y 8 semanas postratamiento.

- **Cuarta Visita:** *Muestra a las 4 semanas del inicio del tratamiento.* Consistió en la toma de una nueva muestra de fluido Crevicular durante 60 segundos en las mismas localizaciones de la muestra anterior. Además se realizó un nuevo periodontograma y un refuerzo sobre las instrucciones de higiene oral e interproximal.
- **Quinta visita:** *Muestra a las ocho semanas del inicio del tratamiento.* Donde se procedió de nuevo a la toma de la muestra de fluido Crevicular en las mismas localizaciones anteriores. Además se realizó un nuevo periodontograma y se volvió a reforzar las técnicas de higiene oral e interproximal, con el fin de que éstas fueran óptimas.

Todos los resultados anteriores se fueron registrando en una hoja cálculo Excel para su posterior proceso estadístico.

Parámetros clínicos y periodontales y exploración radiográfica:

La determinación de los parámetros clínicos se realizó mediante el uso de la sonda periodontal *CP-11*. Las mediciones se realizaron en seis puntos de cada diente. (Distovestibular, vestibular, mesiovestibular, distopalatino, palatino y mesiopalatino).

Los parámetros clínicos estudiados fueron:

- Índice de placa.
- Profundidad de sondaje.
- Nivel de inserción clínica.
- Recesión clínica.
- Sangrado al sondaje.
- Grado de movilidad dental.
- Grado de afectación de la furca.

La sonda utilizada para el estudio fue la *CP-11, HU-Friedy®*, excepto para la medición del grado de afectación de furca que se utilizó la sonda *Nabers #2N mango #7 Qulix 3-6-9-12 mm HU-Friedy®*. La presión ejercida para el sondaje era de aproximadamente de 20 gramos y corresponde a la presión que se ejerce cuando se deja la sonda apoyada por su propio peso sobre una superficie. El nivel de inserción clínica fue considerado la variable primaria. El resto variables secundarias.

Exploración radiológica:

Se realizaba para determinar el grado de pérdida ósea en la periodontitis.¹²⁷ Consistía en la realización de una serie periapical completa de 18 radiografías, de las cuales 14 eran periapicales de incisivos, caninos, premolares y molares de cada cuadrante; y las otras 4 radiografías restantes eran aletas de mordida verticales de premolares y molares.

Variables microbiológicas:

Se realizaron en el fluido Crevicular determinando los niveles de expresión génica de bacterias implicadas en la periodontitis crónica. La determinación se realizó mediante Real Time PCR. Las bacterias a analizar fueron el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, la *Porphyromonas Gingivalis*, la *Tannerella Forsythia*, *Treponema Dentícola* y la *Prevotella intermedia*.

Fundamento:

La técnica se desarrolló en varias fases. La primera consistió en la extracción del ADN de las distintas bacterias. Tras cuantificar la concentración y comprobar la calidad del ADN extraído, se pasó a amplificar el ADN bacteriano mediante la técnica de PCR en tiempo real.

Extracción y cuantificación de ADN bacteriano:

Las muestras se obtuvieron siguiendo el método descrito en el anterior apartado. Las puntas conteniendo el fluido Crevicular se sumergieron en 200 ml de tampón fosfato salino (PBS) durante 24 h a 5°C hasta su utilización para la extracción de ADN.

La extracción de ADN total bacteriano se realizó en el laboratorio Origen[®], utilizando el *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche-applied-science[®], Alemania). A las muestras obtenidas se añadieron 5 ml de lisozima durante 15 minutos a 37°C. Transcurrido este tiempo, se añadieron 200 ml de tampón de unión y 40 ml de proteinasa K (reconstituida). Se mezcló con la ayuda de un vórtex, y se incubaron durante 10 minutos a 70°C.

Posteriormente se añadieron 100 ml de isopropanol, y se mezcló por pipeteo. La mezcla obtenida se pasó al tubo de filtro, para su centrifugación a 8000 x g durante un minuto. Se añadieron 500 ml de tampón para eliminar el inhibidor, volviendo a centrifugar durante un minuto a 8000 x g. Por otro lado, para el lavado, se añadieron 500 ml de tampón de lavado. Se procedió a la centrifugación durante un minuto a 8000 x g. El lavado se repitió dos veces.¹²⁸

Para extraer el ADN, se adicionó 50 ml de tampón de elución previamente calentado a 70°C. Éste se centrifugó durante un minuto a 8000 x g. El ADN total extraído se almacenó en un Eppendorf® para su posterior análisis.

Calidad y cuantificación de ADN:

La calidad y concentración del ADN total extraído, se determinó por espectrofotometría. Utilizando el Nanodrop 2000® y su respectivo software (Thermo Scientific®). Tras el calibrado, se añadieron 2µl de cada muestra en el lector, y el software determinó la calidad (rango 260/208) y concentración en nanogramos (ng)/µl de ADN en cada una de las muestras.

Amplificación del ADN mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR):

La reacción en cadena de la polimerasa, es actualmente, el método más sensible para detectar los niveles de ADN de cualquier origen. Se basa en la amplificación exponencial de una secuencia de ADN conocida.^{129 , 130}

La PCR utiliza dos fragmentos cortos de ADN (oligonucleótidos) como cebadores de la síntesis. Estos cebadores o primers, se unen específicamente a secuencias que flanquean la región a amplificar. Uno en cada una de las cadenas de ADN. El proceso básico se desarrolla en tres pasos que se repiten:

- **Desnaturalización:** Consiste en la separación de las cadenas complementarias del ADN. La temperatura a la cual se alcanza la desnaturalización depende de la composición de las bases de la doble hélice y es mayor cuanto mayor es el número de pares de bases del tipo G-C (Guanina- Citosina) que contenga la molécula.¹³¹
- **Unión o *annealing*** de los cebadores o *primers* específicos a sus secuencias complementarias: La temperatura a la que transcurre (de 40 a 60°C) es específica de la secuencia y longitud del cebador y se determina experimentalmente.

- **Extensión:** Síntesis de la hebra complementaria a partir del primer respectivo (de 70 a 75°C). La síntesis de la hebra complementaria se realiza adicionando al extremo 3' OH (grupo hidroxilo) los desoxinucleótidos libres disponibles en la mezcla de reacción dATP (d adenosín trifosfato), dTTP (d Timidina trifosfato), dCTP (d citidina trifosfato) y dGTP (d guanosina trifosfato). De tal forma que el crecimiento de la nueva hebra se realizaba en sentido 5'→3'.

La repetición de este ciclo, un determinado número de veces, produce un aumento exponencial de la cantidad de la región diana de ADN. La cual viene dada por la expresión 2^n (siendo n el número de ciclos) hasta que se llega a un punto en que la reacción deja de ser exponencial.

El principio básico de la RT-PCR es la detección de los productos de la PCR mediante la generación de señales fluorescentes. La señal de fluorescencia en nuestro trabajo, fue generada por unos fluoróforos que se encontraban unidos a sondas de hibridación, denominadas sistema SYBR Green Master (Roche-applied-science[®], Alemania). La fluorescencia emitida es capturada en la etapa de extensión de cada ciclo y es proporcional al número de copias de ADN de doble cadena obtenidas en cada ciclo de la PCR. (Ilustración 18).

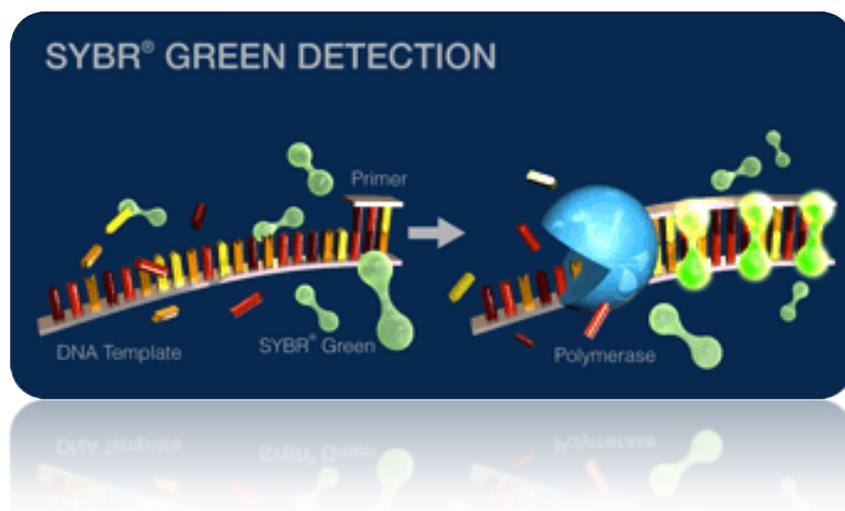


Ilustración 18: Formas de actuación del sistema SYBR Green. www.thermofisher.com

El sistema SYBR Green,¹³² incorpora a la reacción de la PCR un oligonucleótido específico. Éste, hibrida en una región interna del producto de la PCR (secuencia diana). La sonda, se localiza en una región intermedia entre el *forward primer* y el *reverse primer*. E incorpora en el extremo 5', un fluoróforo donante que emite fluorescencia al ser excitado; Y en el extremo 3', un apagador que absorbe la fluorescencia liberada por el donante.

Para que se absorba la fluorescencia emitida por el donante, las moléculas donantes y aceptora deben de estar muy próximas. Además de solaparse el espectro de emisión de la primera con el espectro de absorción de la segunda. Dando como resultado, una baja señal de fluorescencia. Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donante es absorbida por el aceptor.

Sin embargo, durante la amplificación del ADN diana, el desplazamiento a lo largo de la cadena de la ADN polimerasa, el cual tiene actividad 5' exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda que ha hibridado con su cadena complementaria. Produciéndose la liberación del fluoróforo donante. Como donante y aceptor están ahora alejados, la fluorescencia emitida por el primero ya no es absorbida por el aceptor y es captada por el lector.

Este proceso ocurre en cada ciclo y no interfiere con la acumulación exponencial del producto de amplificación.

Condiciones experimentales:

La PCR en tiempo real se realizaba en el termociclador 7900HT Fast *Real-Time* PCR System[®] (Applied Biosystems[®], EEUU). (Ilustración 19). Cuyo lector de fluorescencia detectaba la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realizaba la amplificación. Se usaron cebadores específicos (TIB-MOLBIOL[®], Alemania) de longitud entre 18 y 27 pares de bases marcadas con el SYBR Green para la cuantificación de la expresión génica de los diferentes bacterias. (Tabla 10).

Tabla 10: Secuencia de cebadores reverse y forward utilizados para cada bacteria.

Bacteria	Cebador Reverse	Cebador Forward
<i>P. Gingivalis</i>	TGTAGATGACTGAAAACC	ACGTCATCCCCACCTTCCTC ¹³¹
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	ATTGGGTTTAGCCCTGGTG	ACGTCATCCCCACCTTCCTC ¹³¹
<i>T. forsythia</i>	TACAGGGGAATAAAATGAGATACG	ACGTCATCCCCACCTTCCTC ¹³¹
<i>T. Dentícola</i>	TAATACCGAATGTGCTCATTACA	TACAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA ¹³²
<i>P. Intermedia</i>	CGTGGACCAAAGATTCATCG	ATACGTTGCGTGCACTCA ¹³²

Adenina: A Guanina: G Timina: T Citosina: C

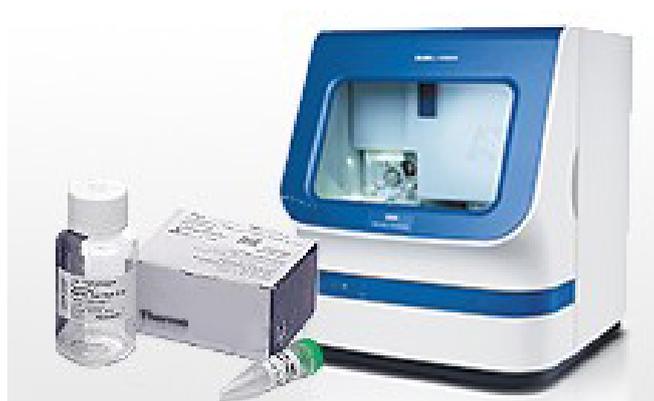


Ilustración 19: Imagen de Termociclador 7900HT Fast Real Time PCR System®.

Procedimiento:

Para la reacción de amplificación, cada pocillo contenía 1µl de ADN procedente de la extracción y 9µl del *Master Mix*. La desnaturalización se realizaba a 50°C durante dos minutos. A continuación, se sometían las muestras a 95°C durante 10 minutos. La unión de los *primers* con el SYBR, se realizaba durante 40 ciclos de 15 segundos cada uno a 95°C. Después se esperaba otro minuto más, dependiendo de

cada bacteria. De tal forma que para la *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* y la *Tannerella forsythia*, se utilizaba una temperatura de 55°C. Para la *Porphyromonas gingivalis*, se usaba una temperatura de 45°C. Y para el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, una temperatura de 65°C. (Ilustración 20).

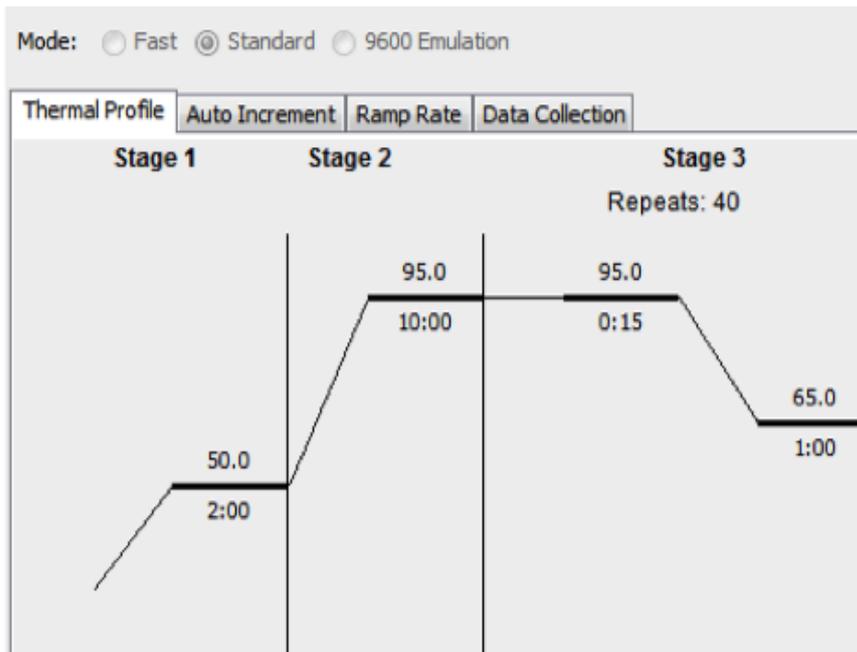


Ilustración 20: Condiciones del termociclador para la bacteria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Cálculos:

Básicamente una reacción de PCR se ajusta a la siguiente ecuación:

$$X_n = X_0 (1 + E_x)^n \text{ siendo,}$$

X_n = Número de copias del gen de estudio en el ciclo "n".

X_0 = Número de copias iniciales del gen de estudio.

E_x = Eficacia de amplificación del gen de estudio (X).

n = Número de ciclos.

A partir de los datos de emisión de fluorescencia recogidos por el termociclador, durante la reacción en tiempo real. Y mediante un programa informático SDS v 2.4. (Applied Biosystems[®], Estados Unidos de América), se construyen las curvas de amplificación. Y se representan en el eje de ordenadas, el logaritmo de la intensidad de la fluorescencia y en abscisas el número de ciclos transcurridos. Como se muestra en la siguiente Ilustración 21.

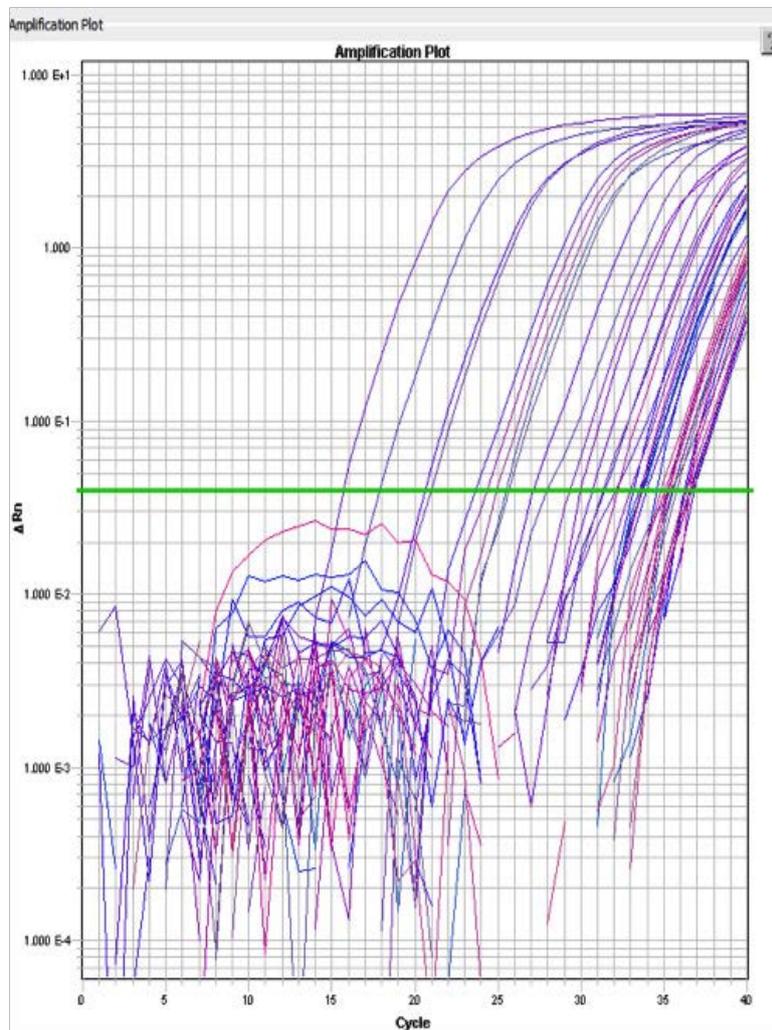


Ilustración 21: Curva de amplificación del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por el PCR- real time.

La línea horizontal (color verde) indica el umbral o *threshold* a partir del cual empieza la linealidad. Se establece como umbral el valor de 0,05 para todos los grupos de estudio.

ΔR_n = Incremento de fluorescencia.

Cycle = número de ciclo en que se encuentra la reacción.

El parámetro de medida de la expresión de un determinado gen, es el ciclo en el que la amplificación comienza a ser exponencial. Este ciclo se denomina *ciclo umbral (threshold Cycle, Ct)*. A partir del cual, la intensidad de fluorescencia empieza a ser apreciable.

Cuantas más copias de ADN de partida del gen estudiado, más ADN se obtendrá en la transcripción inversa, y antes comenzará la amplificación a ser exponencial. Los resultados se analizaron por el método semicuantitativo $\Delta\Delta Ct$.¹³³

Las curvas estándar se realizaron a partir de los datos de ΔCt obtenidos por PCR de ADN extraído de cultivos puros de las bacterias a diferentes diluciones (de 102 a 108 copias). Comparando el ΔCt de las muestras frente al ΔCt de la curva estándar podemos cuantificar la expresión del gen en la muestra (Ilustración 22). Cada muestra se estudió por duplicado.

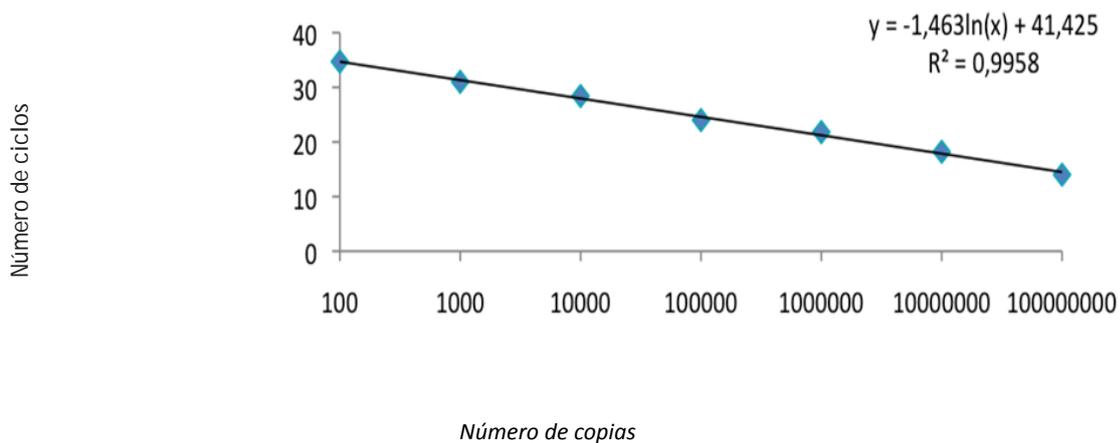


Ilustración 22: Curva estándar del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

8. MÉTODO ESTADÍSTICO.

Estadística descriptiva:

Como índices de la tendencia central y de la dispersión de las variables se emplearon la media aritmética y la desviación estándar o la mediana y el rango intercuartílico, dependiendo de la asunción o no, respectivamente, del supuesto de la normalidad de las mismas determinado con el test de Shapiro Wilks (S-W).

Para las variables categóricas se emplearon las frecuencias absolutas y relativas porcentuales.

Como representaciones gráficas se usaron los diagramas de barras o de sectores, para variables categóricas, y los de barras de error o de cajas, para variables cuantitativas que asuman o no, respectivamente, el supuesto de la normalidad (K-S ó S-W).

Estadística inferencial:

La medida de asociación entre dos variables categóricas se efectuó mediante la χ^2 de Pearson. O la prueba exacta de Fisher si ambas eran dicotómicas, en cuyo caso la valoración del efecto se realizó mediante la estimación del riesgo (RR), y su precisión con su intervalo de confianza del 95%.

La medida de asociación entre una variable independiente politómica y dependiente cuantitativa se estimó con el test F de Snedecor (ANOVA de una vía) o con el de Kruskal Wallis, dependiendo del carácter gaussiano o no (S-W), respectivamente, de dicha variable cuantitativa. Si los valores de la variable independiente eran medidas repetidas en un periodo de tiempo, establecido se empleó el test de Friedman. Las comparaciones múltiples post hoc se efectuaron mediante el test de Bonferroni, para distribuciones paramétricas con varianzas iguales. El test T3 de Dunnett, para distribuciones paramétricas con varianzas desiguales. O con el test de las medianas para distribuciones no paramétricas, previa corrección del nivel de significación estadística según el número de comparaciones.

En todos los casos, como grado de significación estadística se empleó un valor de $p < 0,05$ y la aplicación estadística fue el paquete SPSS® versión 15.

CAPÍTULO V: RESULTADOS

RESULTADOS:

1. Edad y sexo:

La distribución de la variable de control Sociodemográfico se estableció de la siguiente manera. De las 60 personas que participaron en el estudio, 34 fueron mujeres y 26 hombres. Esto es, un 57% de mujeres y un 43% de hombres.

La media de edad fue de 52 años. El rango de edad mayor fue el establecido entre 56 y 65 años con un 43,3 %. De las 34 mujeres que escogimos para el estudio 15 de ellas fueron incluidas en el tercer grupo de RAR y TFD, 11 en el grupo de RAR y Láser y solo 8 en RAR. Sin embargo esta diferencia no fue significativa desde el punto de vista estadístico.

Por otro lado, de los 26 hombres, la mayoría de ellos, 12, fueron incluidos en el tratamiento básico, dejando a 9 en el grupo II de tratamiento de Láser y solo 5 de ellos en el grupo III de TFD.

Esto fue elegido según nuestros criterios clínicos. La distribución queda resumida en la Tabla 11.

Tabla 11 : Tabla de evolución de los parámetros de las variables edad y sexo en los tres grupos de estudio.

		Tratamiento/ Grupos de estudio				P
		Total (n=60)	RAR (n=20)	RAR+LÁSER (n=20)	RAR+ TFD (n=20)	
Sexo n (%)	Hombre	26 (43%)	12 (60%)	9 (45%)	5 (25%)	0,081*
	Mujer	34 (57%)	8 (40%)	11(55%)	15 (75%)	
Edad $\bar{x}(DE)$		52 (7)	51 (8)	52 (8)	52 (7)	0,890**
Edad n (%)	35-45	16 (26,7%)	5 (25%)	6 (30%)	5 (25%)	0,970*
	46-55	18 (30%)	6 (30%)	5 (25%)	7 (35%)	
	56-65	26 (43,3%)	9 (45%)	9 (45%)	8 (40%)	

* χ^2 Pearson; ** ANOVA 1 via

2. Variables clínicas dependientes:

2.1 Índice de placa:

La distribución del índice de placa en la segunda visita del estudio, correspondió al *valor de 2* en la escala de Løe y Silness tanto en los grupos RAR, LÁSER, TFD. Estos resultados indican la homogeneidad de los grupos al inicio del estudio, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p=0,676$).

Un 60 % de los pacientes que estaban en el grupo I RAR, comenzaban el tratamiento con un índice de placa 2 (placa más bolsa periodontal). A su vez, del grupo II LÁSER iniciaban el tratamiento con un índice de placa 2 en el 40% de los pacientes. Y del grupo III TFD, un 50% de los pacientes se encontraban en un índice de placa de grado 2. La distribución queda resumida en la Tabla 12.

Tabla 12: Tabla de evolución de los parámetros de índice de placa antes de comenzar el tratamiento en los tres grupos de estudio.

		Tratamiento				
			RAR	LÁSER	TFD	Total
IP_basal	Placa fina	Recuento	5	8	8	21
		% de Tto	25,0%	40,0%	40,0%	35,0%
	Placa + bolsa	Recuento	12	8	10	30
		% de Tto	60,0%	40,0%	50,0%	50,0%
	Placa 1/2 mm dentro de bolsa	Recuento	3	4	2	9
		% de Tto	15,0%	20,0%	10,0%	15,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

El valor medio en la cuarta visita a las 4 semanas era prácticamente homogéneo. De los 20 sujetos de cada grupo, el 50% conseguían un índice de placa 0 y el otro casi un 50% con un índice de placa 1. En cualquiera de los tres tipos de tratamientos. (RAR, LÁSER, TFD). (Tabla 13). Además no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p= 0,723$). En el tratamiento básico y de láser se obtuvieron los mismos resultados. Por lo que ambos tratamientos mejoran la reducción de índice de placa.

Tabla 13: Evolución de los parámetros de índice de placa a las 4 semanas del tratamiento.

			Tratamiento			
			RAR	LÁSER	TFD	Total
IP_4sem	No placa	Recuento	10	10	10	30
		% de Tto	50,0%	50,0%	50,0%	50,0%
	Placa fina	Recuento	10	9	10	29
		% de Tto	50,0%	45,0%	50,0%	48,3%
	Placa + bolsa	Recuento	0	1	0	1
		% de Tto	,0%	5,0%	,0%	,0%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Sin embargo, el valor medio en la quinta visita a las 8 semanas del estudio indicaba una variación. La mayoría de sujetos conseguían un índice de placa del 0, de entre un 65 y 75%. En los tres grupos de tratamientos. Un 30% de los pacientes seguían manteniendo un índice de placa 1 en cualquiera de los tres grupos. Suponemos que esto es debido a una disminución de la higiene oral. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas. ($p=0,563$). (Tabla 14).

Tabla 14: Evolución de los parámetros de índice de placa a las 8 semanas del tratamiento en los grupos de estudio:

			Tratamiento			
			RAR	LÁSER	TFD	Total
IP_8sem	No placa	Recuento	14	16	13	43
		% de Tto	70,0%	80,0%	65,0%	71,7%
	Placa fina	Recuento	6	4	7	17
		% de Tto	30,0%	20,0%	35,0%	28,3%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Desde el punto de vista comparativo, los pacientes del grupo RAR con CHX, disminuyeron su índice de placa siendo el más bajo a las 8 semanas. El grupo 2 de LÁSER mejoró sus niveles de placa a las 4 semanas y los del tercer grupo de TFD mejoraron su índice de placa en la cuarta semana pero ligeramente se mejoró aún más en la revisión de las 8 semanas. (Gráfico 1).

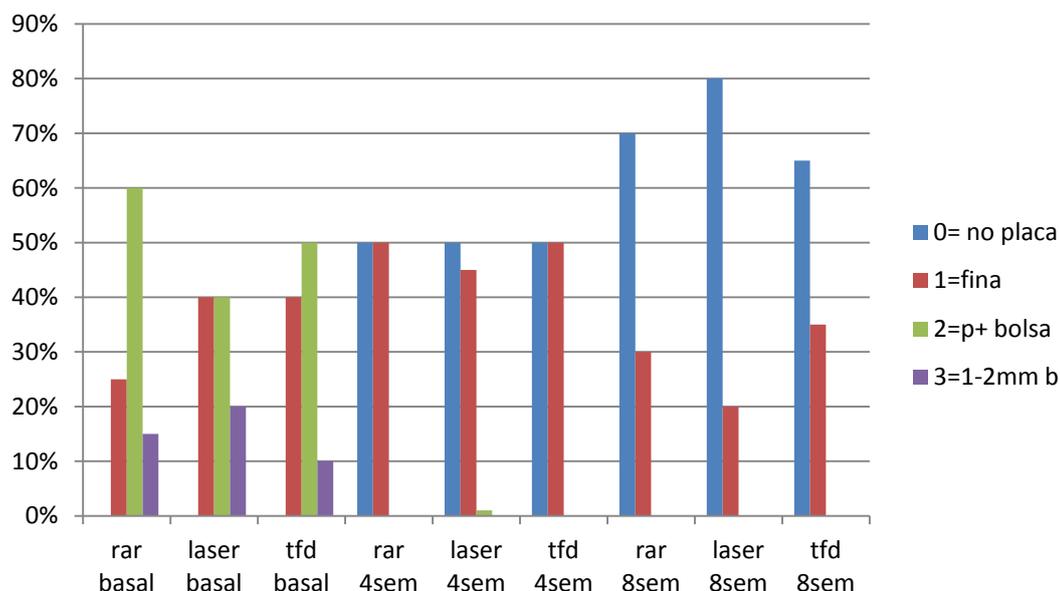


Gráfico 1: Gráfico de comparación de la variable clínica de índice de placa en los tres grupos de tratamiento a lo largo del tiempo.

2.2 Profundidad de sondaje (PS):

La mayor frecuencia en la tercera visita correspondiente a la semana primera de control basal. Perteneciente al valor 5 en los tres grupos. La media de profundidad de sondaje en los 60 pacientes fue de 5 mm.

Estos resultados indicaron la homogeneidad de los grupos al inicio del tratamiento. Y las diferencias encontradas podrían ser explicadas por el azar ($p=0,519$).

El promedio de la profundidad de sondaje a partir de la semana 4 de la realización del tratamiento fue de 3,75mm. Por lo que disminuyó prácticamente 1 mm. No hubo diferencias estadísticamente significativas. ($p= 0,521$).

Pero además, a las 8 semanas, la variable de profundidad de sondaje siguió disminuyendo otro milímetro más en los tres grupos de tratamientos. Es decir, bajó a 3 mm. Por lo que hubo una disminución de profundidad de sondaje de 2 mm de media, a nivel general, a las ocho semanas del comienzo del tratamiento.

Siendo más efectivos, los tratamientos de los grupos II y III: LÁSER y TFD. No existiendo, una vez más, diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,774$). A continuación quedan resumidos los parámetros de profundidad de sondaje en la Tabla 15.

Tabla 15: Evolución de la variable clínica de profundidad de sondaje (PS) a lo largo del tiempo en los tres grupos de estudios.

	BASAL			4 SEM			8 SEM		
	RAR	LÁSER	TFD	RAR	LÁSER	TFD	RAR	LÁSER	TFD
PS mm $\bar{x}(DE)$	5,1(0,6)	5,3(0,5)	5,2(0,5)	3,7(0,5)	3,7(0,5)	3,8(0,5)	3,1(0,3)	3(0,2)	3(0,2)
p^*		0,519*			0,521*			0,774*	

* ANOVA 1

Por otro lado, en relación a la evolución de la *profundidad de sondaje a lo largo del tiempo* dentro de cada uno de los tratamientos, ocurrió lo siguiente. Todas las p fueron $\leq 0,001$. Lo que indicó que aquí si hubo una diferencia estadísticamente muy significativa. Se observa en la Tabla 16.

Tabla 16: Evolución de la profundidad de sondaje, a lo largo del tiempo del estudio, en los tres grupos de estudio.

Estadísticos de contraste(a)		
RAR	N	20
	Chi-cuadrado	37,333
	Gl	2
	Sig. asintót.	<0,001
LASER	N	20
	Chi-cuadrado	37,507
	Gl	2
	Sig. asintót.	<0,001
TFD	N	20
	Chi-cuadrado	38,000
	Gl	2
	Sig. asintót.	<0,001

a Prueba de Friedman

En el siguiente Gráfico 2, se explica la evolución de la PS a lo largo del tiempo. Se consiguió una reducción estadísticamente significativa en la toma de muestra de fluido Crevicular a las 4 semanas del estudio. ($p=0,000$). Posteriormente a las 8 semanas, volvimos a encontrarnos una reducción de la PS. ($p=0,000$).

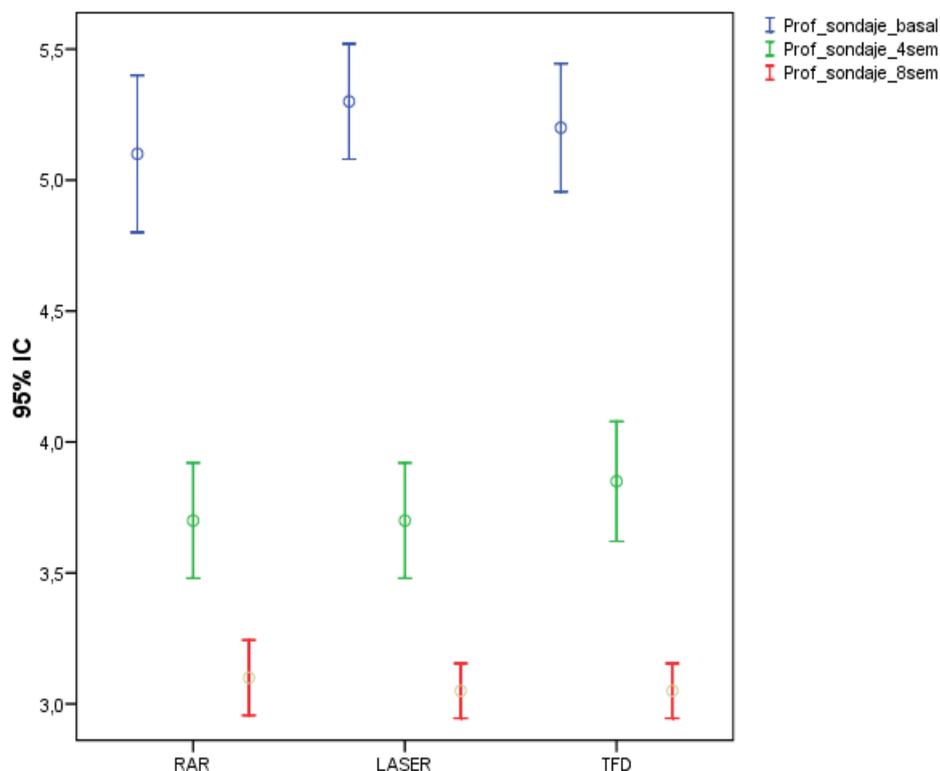


Gráfico 2: Representación gráfica mediante barras de error de la profundidad de sondaje a lo largo de las 8 semanas para los tres grupos de estudio.

2.3 Sangrado al sondaje:

La Tabla 17, recoge la evolución de los valores del sangrado con el tiempo para los tres tipos de tratamientos en la primera fase del estudio (Basal). Y el Gráfico 3 muestra la evolución del sangrado a lo largo del estudio en los tres grupos de tratamientos. Se observó una reducción paulatina de esta variable.

Tabla 17: Evolución del Sangrado al sondaje en la semana de inicio del estudio previo a realizar los tratamientos.

			Tratamiento			
			RAR	LÁSER	TFD	Total
Sangrado_basal	Sangrado + cálculo + sonda muy visible	Recuento	9	9	10	28
		% de Tto	45,0%	45,0%	50,0%	46,7%
	Sangrado + cálculo + sonda menos visible	Recuento	8	9	8	25
		% de Tto	40,0%	45,0%	40,0%	41,7%
	Sangrado + cálculo + sonda no visible	Recuento	3	2	2	7
		% de Tto	15,0%	10,0%	10,0%	11,7%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

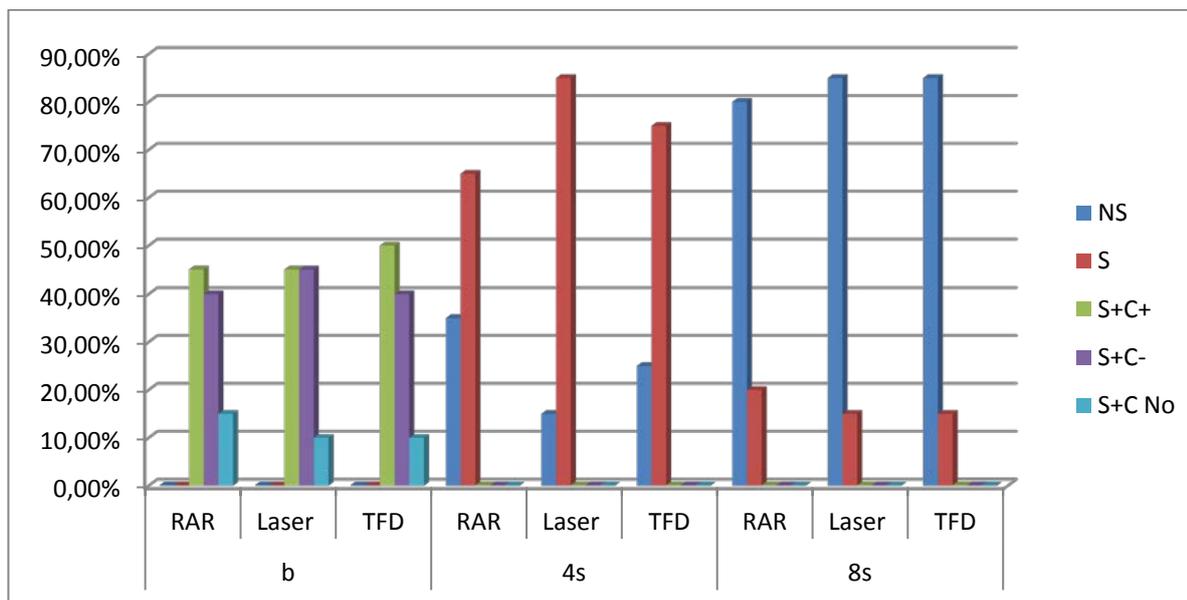


Gráfico 3: Gráfico donde se explica la evolución del sangrado al sondaje (SS) en las tres etapas del estudio. Siendo NS=no sangrado, S= Ligero sangrado, S+C+=sangrado y cálculo donde la sonda periodontal es visible en las bolsas, S+C-= sangrado y cálculo donde la sonda periodontal menos visible en la bolsa y S+C= mucho sangrado y cálculo, no podemos ver la sonda en la bolsa.

El Gráfico 3 muestra la evolución del sangrado al sondaje. Se observa la disminución de los grados de sondaje tras los tratamientos en la semana 4. Desapareciendo completamente el cálculo y mejorando la higiene. Dando paso a solamente a síntomas de ligero sangrado y en algunos casos, desapareciendo éste. En la primera fase del estudio se observó un mayor porcentaje de sangrado de tipo 2. Esto es, sangrado y cálculo con la sonda periodontal visible en las bolsas. No habiendo diferencias estadísticamente significativas. (p=0,979).

Después del tratamiento realizado, a las 4 semanas se registró una reducción significativa del sangrado. Los pacientes se encontraron con una reducción del sangrado al sondaje de grado 0 y 1. Siendo algo más eficaz el grupo I RAR, con un 35% en SS de grado 0. Se obtuvo un mejor resultado comparándose con los grupos II y III; aunque no se hallaron diferencias estadísticamente significativas. (p=0,344).

En los tres grupos de tratamiento se advirtió una reducción mayoritaria de un punto, donde disminuyó el porcentaje de sangrado al sondaje. En algunas zonas sangraba, pero se redujo la bolsa y no hubo cálculo. Esto se muestra en la siguiente Tabla 18 .

Tabla 18: Evolución del Sangrado al sondaje, 4 semanas después de realizar los tratamientos en los grupos de estudios.

		Tratamiento				
			RAR	LÁSER	TFD	Total
Sangrado_4sem	No sangrado	Recuento	7	3	5	15
		% de Tto	35,0%	15,0%	25,0%	25,0%
	Sangrado mínimo	Recuento	13	17	15	45
		% de Tto	65,0%	85,0%	75,0%	75,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente, en la tercera fase del estudio se produjo una nueva reducción. El sangrado prácticamente desapareció en los tres grupos de estudios. Siendo ligeramente mayor (un 5%) en los grupos de LÁSER y TFD. Por lo que parece indicar que en el sangrado, si existe una mejora en el tratamiento con te-

rapia fotoactiva y el láser; aunque leve. (Tabla 19). Desde el punto de vista estadístico, no se encontraron tampoco diferencias significativas. ($p=0,887$).

Tabla 19: Evolución del sangrado al sondaje en la semana 8 después del tratamiento.

			Tratamiento			Total
			RAR	LÁSER	TFD	
Sangrado_8sem	No sangrado	Recuento	16	17	17	50
		% de Tto	80,0%	85,0%	85,0%	83,3%
	Sangrado mínimo	Recuento	4	3	3	10
		% de Tto	20,0%	15,0%	15,0%	16,7%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

2.4 Recesión Clínica:

La mayor frecuencia al inicio del tratamiento correspondió al valor 0. Así queda recogida en la Tabla 20. No habiendo diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,715$).

Tabla 20: Evolución de la variable clínica de recesión en función de los tratamientos a lo largo del estudio.

	Basal				4 sem				8 sem			
	RAR	Láser	TFD	P	RAR	Láser	TFD	p	RAR	Láser	TFD	p
RC Md(IQR)	0(1)	0(0)	0(1)	0,715*	1,5(1)	2(1)	2(1)	0,298*	2(0)	2(1)	3(1)	0,072*

*: Kruskal-Wallis

La recesión media en la visita 2 (4semanas) se cifró en una media de 2 mm de recesión. El grupo I (RAR), perdió 1,5 mm a las 4 semanas y el grupo II (LÁSER), 2 mm. El grupo III (TFD), aumentó de la muestra a la segunda 2mm. ($p=0,298$). Y de ésta, a la tercera muestra del estudio, un milímetro más. ($p=0,072$). No siendo estadísticamente significativo. Aunque, incrementando el tamaño muestral, podría verificarse si realmente es estadísticamente significativo que en la TFD sea mayor la recesión clínica. En general, a nivel

comparativo, esto indica una evolución homogénea con el tratamiento. Cualquiera de los tres tratamientos supuso un aumento de recesión. Siendo prácticamente iguales los resultados en los grupos I y II.

2.5 Nivel de inserción clínica:

En cada uno de los grupos de estudio, el nivel de inserción clínica en el comienzo de tratamiento fue diferente. Aquí, no existió una homogeneidad al comienzo como sí ocurrió con otros valores. Como se resume en la Tabla 21, el grupo 1 correspondiente al grupo de RAR, comenzó mayoritariamente con un nivel de inserción medio de 6,4 mm. El grupo 2 LÁSER estaba más distribuido, pero hubo un porcentaje mayor de niveles de inserción de 6 mm (35%). En el tercer grupo, TFD, un 40 % de los pacientes empezaron el tratamiento con un nivel de inserción clínica de 6mm. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,523$). (Tabla 21).

Tabla 21: Evolución del nivel de inserción clínica en función de los tratamientos a lo largo del estudio.

	Basal			4semanas			8 semanas		
	RAR	LÁSER	TFD	RAR	LÁSER	TFD	RAR	LÁSER	TFD
NIC $\bar{x}(DE)$	6,4(0,8)	6,3(1,3)	6(0,8)	5,5(0,6)	5,5(0,8)	5,1(0,3)	5,1(0,3)	5,1(0,3)	5(0,2)
P		0,523*			0,070*			0,587*	

*ANOVA 1 VÍA

A las 4 semanas del estudio, el nivel de inserción varió. Disminuyó en el grupo I en 1 mm. De 6,4 mm disminuyó a 5,5 mm. El 40% de los pacientes de ese grupo. En el grupo II LÁSER, se observó también una disminución del nivel de inserción clínica. De 6,3 bajó a 5,5mm. El grupo III de TFD, se contempló también una disminución. De 6 mm a 5mm. Existiendo aquí, diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,070$).

También se advirtieron cambios a las 8 semanas del estudio. El nivel de inserción disminuyó a 5 mm en los pacientes procedentes del grupo I RAR. Por lo que hubo una mejora. Los del grupo II LÁSER se mantuvieron en el mismo nivel de inserción, 5 mm un 90% de ellos. Por lo que también se advirtió un progreso. Y en el grupo III de TFD, también se observó la mejoría del nivel de inserción con el tiempo. Aumentó notablemente la cantidad de pacientes que recuperaron el nivel de inserción clínica llegando a los 5 mm el 95% de ellos. Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,587$).

Tabla 22: Evolución del nivel de inserción clínica (NIC) a lo largo del tiempo en los tres grupos de estudio.

Estadísticos de contraste(a)		
RAR	N	20
	Chi-cuadrado	29,714
	Gl	2
	Sig. asintót.	,000
LASER	N	20
	Chi-cuadrado	23,227
	Gl	2
	Sig. asintót.	,000
TFD	N	20
	Chi-cuadrado	27,395
	Gl	2
	Sig. asintót.	,000

a Prueba de Friedman

Por el test de Friedman, podemos hablar de la evolución de los tres tratamientos a lo largo del tiempo. Al haber un valor $<0,001$, se produjo un descenso en los p estadísticamente significativo. Los tres tratamientos fueron eficaces, pero parece indicar que en el tratamiento de TFD, la evolución es mejor. Como podemos ver en la Tabla 22.

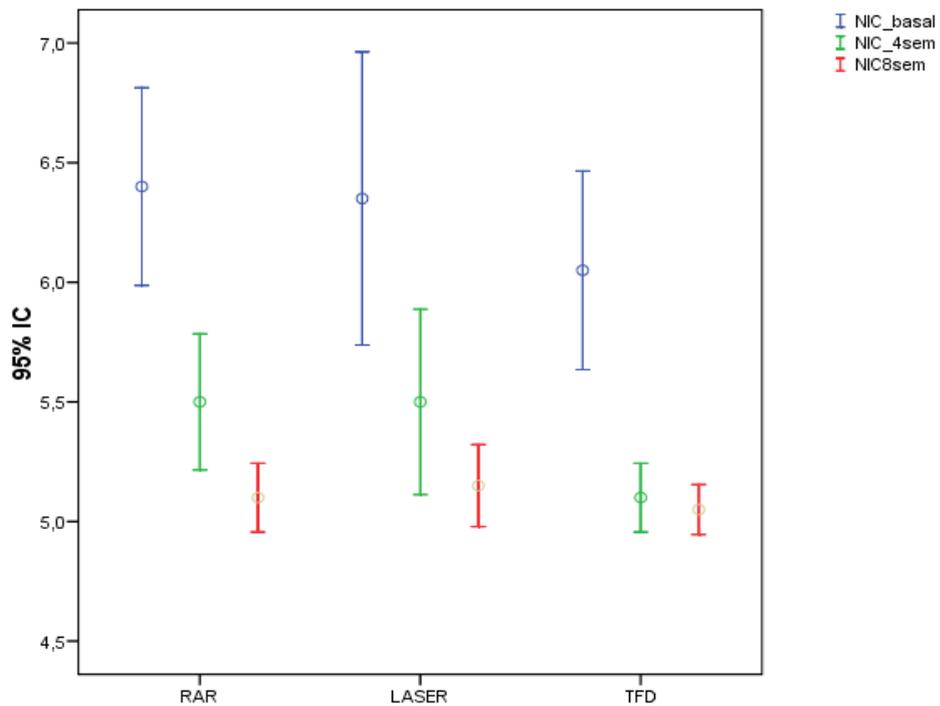


Gráfico 4: Representación gráfica mediante barras de error en la evolución del nivel inserción clínica (NIC) a lo largo del estudio.

El Gráfico 4, nos informa de la eficacia de los tratamientos a lo largo del tiempo. Si observamos la parte de la gráfica correspondiente al tratamiento de RAR, podemos afirmar que hay una diferencia muy significativa. Se produjo un descenso paulatino del valor de NIC durante las 8 semanas del estudio, pero en el tratamiento de RAR a lo largo del tiempo mejoró más favorablemente. En la gráfica de barras de error, también se observa que el nivel de inserción clínica en el grupo de estudio III TFD, ya alcanzó una disminución importante en la 4ª semana, cosa que no hicieron en los otros dos grupos, que lograron alcanzar la mejoría a las 8 semanas del estudio.

2.6 Grado de movilidad dental:

El análisis de la movilidad dental durante la primera fase del estudio fue prácticamente homogéneo en los tres tipos de tratamientos. La media de grado de movilidad fue 1, esto es, movilidad de 1mm a

nivel horizontal. Tal como se registra en la Tabla 23. Además no hubo diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,795$).

Tabla 23: Evolución del parámetro de grado de movilidad en los tres grupos de estudios previo a los tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LÁSER	TFD	Total	
MOV_basal	Movilidad 1 mm horizontal	Recuento	14	16	16	46
		% de Tto	70,0%	80,0%	80,0%	76,7%
	Movilidad > 1 mm horizontal	Recuento	5	4	3	12
		% de Tto	25,0%	20,0%	15,0%	20,0%
	Movilidad vertical y horizontal	Recuento	1	0	1	2
		% de Tto	5,0%	,0%	5,0%	3,3%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente a las 4 semanas del inicio del tratamiento hubo una ligera variación del grado de movilidad en el primer grupo de solo RAR. Se logró variar, muy ligeramente, la movilidad de algunas piezas de pacientes. Disminuyendo su grado muy poco, pero manteniendo la media a grado 1. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,676$). (Tabla 24).

Tabla 24: Evolución del grado de movilidad en la semana 4 después del tratamiento en función de los tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LÁSER	TFD	Total	
MOV_4sem	Movilidad 1 mm horizontal	Recuento	16	18	17	51
		% de Tto	80,0%	90,0%	85,0%	85,0%
	Movilidad > 1 mm horizontal	Recuento	4	2	3	9
		% de Tto	20,0%	10,0%	15,0%	15,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Además, a las 8 semanas de los tratamientos se percibió una homogeneidad en los grados de movilidad de los grupos de estudio. Se obtuvieron los mismos resultados que a las 4 semanas. El grado de movilidad se mantuvo; y no parecen existir diferencias significativas con respecto a ellos. ($p=0,866$). A continuación, queda resumido en la siguiente Tabla 25.

Tabla 25: Evolución del grado de movilidad en la semana 8 del estudio comparando los tres tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LÁSER	TFD	Total	
MOV_8sem	Movilidad 1 mm horizontal	Recuento	17	18	17	52
		% de Tto	85,0%	90,0%	85,0%	86,7%
	Movilidad > 1 mm horizontal	Recuento	3	2	3	8
		% de Tto	15,0%	10,0%	15,0%	13,3%
Total	Recuento	20	20	20	60	
	% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

El siguiente Gráfico 5, recoge la evolución de los resultados de la variable de movilidad dental a lo largo del tiempo.

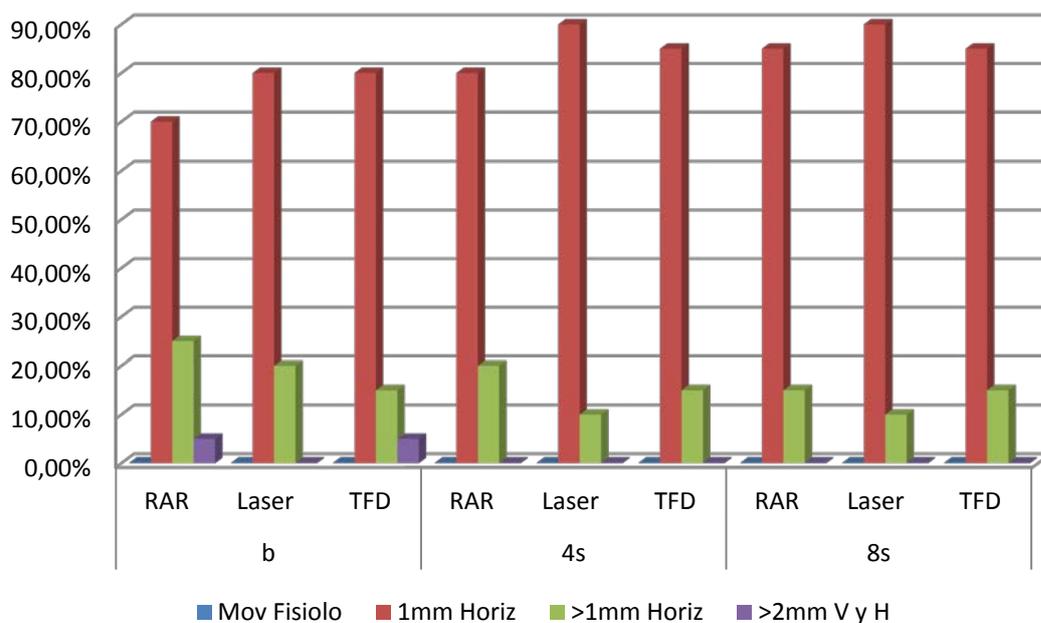


Gráfico 5: Gráfica de evolución de la variable de movilidad dental en los tratamientos a lo largo del estudio.

2.7 Grado de afectación de furca:

El análisis de grado de afectación furcal se realizó sobre piezas dentales que tenían algún grado mínimo de afectación. La distribución de frecuencias en la primera visita, semana 1, en los tres tipos de tratamientos que mayoritariamente existió fue de grado 1. Como indica la siguiente Tabla 26.

Tabla 26: Evolución del grado de afectación de furca en el comienzo del tratamiento.

			Tratamiento			
			RAR	LÁSER	TFD	Total
FURCA_basal	Grado 1	Recuento	17	18	18	53
		% de Tto	85,0%	90,0%	90,0%	88,3%
	Grado 2	Recuento	3	2	2	7
		% de Tto	15,0%	10,0%	10,0%	11,7%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente, en la semana 4 del tratamiento no varió tampoco. Ni comparativamente entre los tres tipos de tratamientos (RAR, LÁSER y TFD) mostraron siempre una afectación furcal de grado 1. Como se puede ver en la siguiente tabla. (Tabla 27).

Tabla 27: Evolución del grado de afectación de furca en la semana 4 después del tratamiento.

			Tratamiento			
			RAR	LÁSER	TFD	Total
FURCA_4sem	Grado 1	Recuento	17	18	18	53
		% de Tto	85,0%	90,0%	90,0%	88,3%
	Grado 2	Recuento	3	2	2	7
		% de Tto	15,0%	10,0%	10,0%	11,7%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

A las 8 semanas del estudio y tratamiento de los pacientes, de nuevo se midieron los grados de las piezas con afectación de furca y el resultado fue homogéneo, por lo que no parecen existir diferencias

significativas entre los tres tipos de tratamientos ni entre ellos mismos a lo largo del tiempo. (Tabla 28).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,851$).

Tabla 28: Evolución del grado de afectación de furca en la semana 8 después del tratamiento.

			<u>Tratamiento</u>			
			RAR	LÁSER	TFD	Total
FURCA_8sem	Grado 1	Recuento	17	18	18	53
		% de Tto	85,0%	90,0%	90,0%	88,3%
	Grado 2	Recuento	3	2	2	7
		% de Tto	15,0%	10,0%	10,0%	11,7%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

En resumen, los resultados del estudio de la evolución de las variables clínicas, indicaron que en cualquiera de los tres tipos de tratamientos han disminuido las variables de índice de placa, sangrado al sondaje, profundidad de bolsa, nivel de inserción clínica y sangrado al sondaje. No hay diferencias significativas con el grado de afectación de furca ni el grado de movilidad. Comparando el tratamiento de RAR frente al del láser, los resultados fueron parecidos salvo en el caso de la reducción del sangrado al sondaje; el cual parece indicar que el tratamiento coadyuvado con láser mejora este parámetro clínico. También se observó una mejoría comparando los grupos I y II, en el parámetro clínico de índice de placa; contemplando una reducción algo más superior al realizar el tratamiento coadyuvado de láser. Si comparamos los resultados del grupo I (RAR) frente al grupo III (TFD), se advierte mejores resultados de la terapia fotodinámica en los parámetros de profundidad de sondaje, sangrado al sondaje y nivel de inserción clínica. A continuación se recogen en una tabla el resumen de todos los resultados clínicos anteriormente mencionados con sus correspondientes test estadísticos.

Tabla 29: Tabla resumen de resultados estadísticos de las variables clínicas.

Variable	Categorías	Basal				4 semanas				8 semanas			
		RAR	RAR + L	RAR + TFD	P	RAR	RAR + L	RAR + TFD	p	RAR	RAR + L	RAR + TFD	p
SANGRADO	No sangrado.	-	-	-		7(35%)	3(15%)	5(25%)		16(80%)	17(85%)	17(85%)	
	Sangrado Mínimo.	-	-	-		13(65%)	17(85%)	15(75%)		4(20%)	3(15%)	3(15%)	
	Sangrado+ cálculo sonda visible.	9(45%)	9(45%)	10(50%)	0,979*	-	-	-	0,344*	-	-	-	0,887*
	Sangrado y cálculo sonda menos visible.	8 (40%)	9(45%)	8(40%)		-	-	-		-	-	-	
	Sangrado y cálculo. Sonda no se ve.	3(15%)	2(10%)	2(10%)		-	-	-		-	-	-	
ÍNDICE DE PLACA	Sin plaza zona gingival	-	-	-		10(50%)	10(50%)	10(50%)		14(70%)	16(80%)	13(65%)	
	Poca placa	5(25%)	8(40%)	8(40%)		10(50%)	9(45%)	10(50%)		6(30%)	4(20%)	7(35%)	
	Depósitos blandos en bolsa	12(60%)	8(40%)	10(50%)	0,676*	0(0%)	1(5%)	0(0%)	0,723*	-	-	-	0,563*
	Placa gruesa dentro de bolsa	3(15%)	4(20%)	2(10%)		-	-	-		-	-	-	
PS $\bar{x}(DE)$		5,1(0,6)	5,3(0,5)	5,2(0,5)	0,519**	3,7(0,5)	3,7(0,5)	3,8(0,5)	0,521**	3,1(0,3)	3(0,2)	3(0,2)	0,774**
NIC $\bar{x}(DE)$		6,4(0,8)	6,3(1,3)	6(0,8)	0,523**	5,5(0,6)	5,5(0,8)	5,1(0,3)	0,070**	5,1(0,3)	5,1(0,3)	5(0,2)	0,587**
RC $Md(IQR)$		0(1)	0(0)	0(1)	0,715***	1,5(1)	2(1)	2(1)	0,298***	2(0)	2(1)	3(1)	0,072***
MOVILIDAD	Movilidad fisiológica	-	-	-		-	-	-		-	-	-	
	Movilidad \leq 1mm sentido horizontal	14/70%)	16(80%)	16(80%)		16(80%)	18(90%)	17(85%)		17(85%)	18(90%)	17(85%)	
	Movilidad > 1mm sentido horizontal	5(25%)	4(20%)	3(15%)	0,795*	4(20%)	2(10%)	3(15%)	0,676*	3(15%)	2(10%)	3(15%)	0,866*
	Movilidad horizontal y vertical	1(5%)	0 (0%)	1(5%)		-	-	-		-	-	-	
GRADO DE FURCA	Defecto furca < 3mm sentido horizontal	17(85%)	18(90%)	18(90%)		17(85%)	18(90%)	18(90%)		17(85%)	18(90%)	18(90%)	
	Defecto furca \geq 3mm sentido horizontal	3/15%)	2(10%)	2(10%)	0,851*	3/15%)	2(10%)	2(10%)	0,851*	3/15%)	2(10%)	2(10%)	0,851*
	Pérdida total nivel óseo en furca sentidos vertical y horizontal	-	-	-		-	-	-		-	-	-	

*: χ^2 Pearson; **: ANOVA; ***: Kruskal-Wallis.

3. Variables microbiológicas:

3.1 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: (Aa).

Se recogieron los resultados descriptivos de la evolución de la carga bacteriana para el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a lo largo del tratamiento. El número de bacterias de A.a, en los tres grupos, oscilaba entre 40000 y 80000 bacterias a comienzo del estudio. (Tabla 30) Por lo que se encontraba muy presente en la primera muestra de fluido Crevicular. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comienzo de los tratamientos. ($p=0,01$)

Tabla 30: Evolución de la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* comparando los grupos de estudio previo a los tratamientos.

		Tratamiento			Total
		RAR	LASER	TFD	
Aa_basal > 20000 a 40000	Recuento	0	1	0	1
	% de Tto	,0%	5,0%	,0%	1,7%
> 40000 a 60000	Recuento	14	18	7	39
	% de Tto	70,0%	90,0%	35,0%	65,0%
>60000 a 80000	Recuento	6	1	13	20
	% de Tto	30,0%	5,0%	65,0%	33,3%
Total	Recuento	20	20	20	60
	% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente, a las 4 semanas, la bacteria A.a se redujo considerablemente en el grupo Láser y TFD, pero no lo hizo en el grupo RAR. Con una diferencia estadísticamente muy significativa. ($p=0,01$) El tratamiento del primer grupo RAR, redujo la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pero muy poco. Un 80% de la carga bacteriana del A.a, seguía estando entre el rango de 40 a 60000 bacterias. Sin embargo, en los grupos de estudio 2º y 3º, LÁSER y TFD si se observaron diferencias. Disminuyeron la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, hasta el rango de < de 20000 bacterias. (Tabla 31)

Tabla 31: Evolución de la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a las 4 semanas de los tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LASER	TFD	Total	
Aa_4sem	0 a 20000	Recuento	0	19	16	35
		% de Tto	,0%	95,0%	80,0%	58,3%
> 20000 a 40000	Recuento	4	1	4	9	
	% de Tto	20,0%	5,0%	20,0%	15,0%	
> 40000 a 60000	Recuento	16	0	0	16	
	% de Tto	80,0%	,0%	,0%	26,7%	
Total	Recuento	20	20	20	60	
	% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Cuando se realizó la toma de la tercera muestra a las 8 semanas después del tratamiento, volvimos a obtener unos buenos resultados en los dos grupos de LÁSER y TFD. Se redujo considerablemente la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en los grupos II y III, llegando en algunos casos a estar ausente. Y fue el grupo TFD con la sustancia fotoactiva EmunDo, la que fue algo más efectiva. (Gráfico 6). Encontrando que la $p=0,001$ a lo largo del estudio, lo que indica que hay una diferencia estadísticamente muy significativa para esta variable.

En el grupo I RAR, no se consiguió la reducción como en los otros dos grupos, por lo que parece indicar que el tratamiento coadyuvante con TFD pueda ser algo más efectivo para la disminución o desaparición del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. (Tabla 32).

Tabla 32: Evolución de la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a las 8 semanas de los tratamientos en función de los grupos de estudio.

		Tratamiento				
		RAR	LASER	TFD	Total	
Aa_8sem	0 a 20000	Recuento	2	20	20	42
		% de Tto	10,0%	100,0%	100,0%	70,0%
> 20000 a 40000	Recuento	18	0	0	18	
	% de Tto	90,0%	,0%	,0%	30,0%	
Total	Recuento	20	20	20	60	
	% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

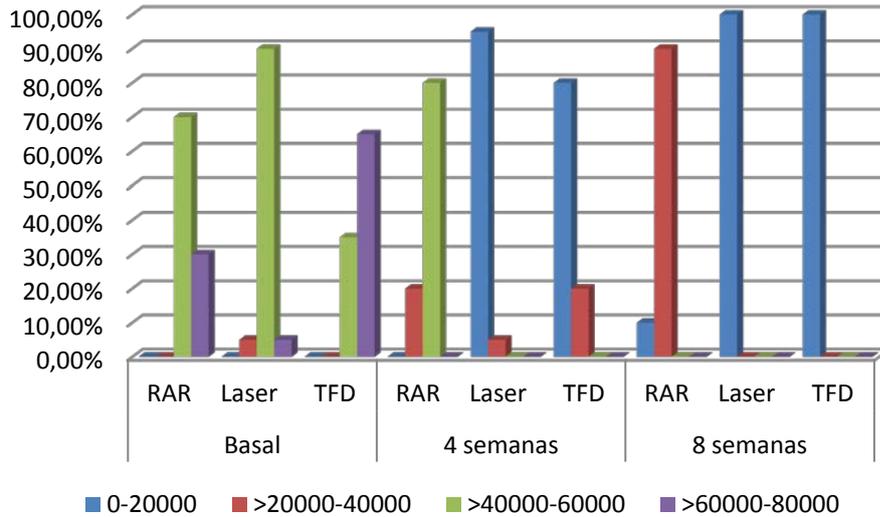


Gráfico 6: Gráfico de evolución del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a lo largo de tiempo.

3.2 *Porphyromonas gingivalis*: (*Pg*).

Los resultados fueron muy buenos en cuanto a la reducción de esta bacteria durante el estudio. Se consiguió una reducción parecida a un paciente periodontalmente sano. En la primera muestra antes de comenzar el tratamiento, la carga bacteriana de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* era bastante alta. Típica de un paciente con periodontitis crónica. Así queda resumida en la Tabla 33. Además no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,563$).

Tabla 33: Carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis* presente al comienzo de los tratamientos.

		Tratamiento			
		RAR	LASER	TFD	Total
P.g_basal >20 millones a 30 millones	Recuento	6	4	7	17
	% de Tto	30,0%	20,0%	35,0%	28,3%
>30 millones a 40 millones	Recuento	14	16	13	43
	% de Tto	70,0%	80,0%	65,0%	71,7%
Total	Recuento	20	20	20	60
	% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

A las 4 semanas del tratamiento, la carga bacteriana disminuyó considerablemente. Lo que indica la efectividad del tratamiento en cualquier de los tres grupos de estudio. (Tabla 34).

Tabla 34: Evolución de la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis* a las 4 semanas de los tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LASER	TFD	Total	
P.g_4sem	0 a 10 millones	Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente a las 8 semanas del estudio se procedió a la toma de la tercera muestra para evaluar la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis* y los resultados fueron muy buenos. (Tabla 35). En cualquiera de los tres grupos se produjo una reducción de la *P.g* llegando hasta valores de paciente periodontalmente sano. Lo que indica la efectividad de cualquier tipo de tratamiento en los tres grupos de estudio para esta bacteria. (Gráfico 7).

Tabla 35: Evolución de la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis* a las 8 semanas de los tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LASER	TFD	Total	
P.g_8sem	0 a 10 millones	Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

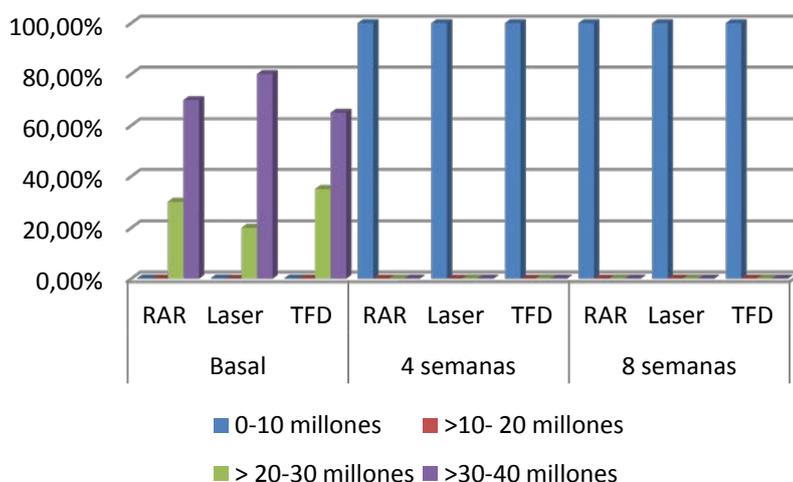


Gráfico 7: Evolución de la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis* a lo largo del estudio en los grupos de tratamientos.

3.3 *Tannerella forsythia*: (*T.f*)

Al igual que con la *Porphyromonas gingivalis*, los resultados que obtuvimos de la cantidad de la carga bacteriana perteneciente a la *Tannerella forsythia* indicaron que se produjo una reducción a lo largo del estudio en los tres tipos de tratamientos. Tanto en el RAR, como en los grupos de LÁSER y TFD. Se observó una reducción paulatina de la cantidad de esta bacteria.

Así al comienzo del tratamiento, la concentración media de bacterias de la *Tannerella forsythia* entre los tres grupos de estudio fue de entre 60 y 80 millones. (Tabla 36). No encontrando una diferencia estadísticamente significativa. ($p=0,747$). -

Tabla 36: Evolución de la carga bacteriana de la *Tannerella forsythia* (*T.f*) en la semana del comienzo de los tratamientos.

			Tratamiento			
			RAR	LASER	TFD	Total
T.f_basal	>20 millones a 40 millones	Recuento	1	3	3	7
		% de Tto	5,0%	15,0%	15,0%	11,7%
	>40 millones a 60 millones	Recuento	3	3	5	11
		% de Tto	15,0%	15,0%	25,0%	18,3%
	> 60 millones a 80 millones	Recuento	8	9	8	25
		% de Tto	40,0%	45,0%	40,0%	41,7%
	> 80 millones a 100 millones	Recuento	8	5	4	17
		% de Tto	40,0%	25,0%	20,0%	28,3%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente, a las 4 semanas del tratamiento la carga bacteriana disminuyó. Se fue reduciendo en cualquiera de los tres grupos de tratamientos a niveles bajos para esta bacteria muy presente en la enfermedad periodontal. (Tabla 37).

Tabla 37: Evolución de la carga bacteriana de la *Tannerella forsythia* (*T.f*) en la semana 4 de los tratamientos en los tres grupos de estudio.

		Tratamiento				
		RAR	LASER	TFD	Total	
T.f_4sem	0 a 20 millones	Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

En la semana 8, después del tratamiento, se produjo una nueva disminución. Se observó una reducción de la *Tannerella forsythia* hasta niveles compatibles con un paciente periodontalmente sano. En cualquiera de los tres grupos; lo que indica la efectividad de los tres tipos de tratamientos para la eliminación de la bacteria *T.f*. (Tabla 38). (Gráfico 8).

Tabla 38: Evolución de la carga bacteriana de la *Tannerella Forsythia* a las 8 semanas de los tratamientos.

		Tratamiento				
		RAR	LASER	TFD	Total	
T.f_8sem	0 a 20 millones	Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

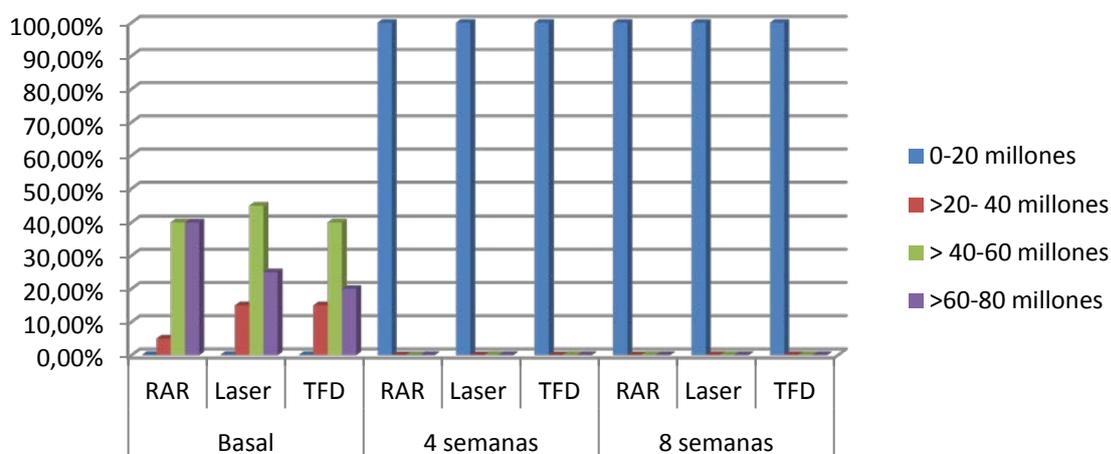


Gráfico 8: Gráfico de evolución de la *Tannerella forsythia* a lo largo del estudio en los tres grupos.

3.4 Prevotella intermedia: (P.i)

Los resultados descriptivos de la *Prevotella intermedia* no parecieron indicar diferencias estadísticamente significativas a lo largo del estudio. Antes de comenzar el tratamiento, el recuento de esta bacteria fue bastante elevado, entre 40 y 60 millones. No habiendo diferencias estadísticamente significativas. (p=0,406). (Tabla 39).

Tabla 39: Evolución de la carga bacteriana de la *Prevotella intermedia* antes de los tratamientos.

			Tratamiento			
			RAR	LASER	TFD	Total
P.i_basal	>20 millones a 40 millones	Recuento	2	1	3	6
		% de Tto	10,0%	5,0%	15,0%	10,0%
	>40 millones a 60 millones	Recuento	16	15	11	42
		% de Tto	80,0%	75,0%	55,0%	70,0%
	> 60 millones a 80 millones	Recuento	2	4	6	12
		% de Tto	10,0%	20,0%	30,0%	20,0%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Después de los tratamientos, a las 4 semanas del estudio, se produjo un ligero aumento del número de bacterias de este tipo. Encontrando un 75% de bacterias del primer grupo RAR pertenecientes al rango de 40 a 60 millones de unidades formadoras de colonias bacterianas. Y un 20%, entre 60 y 80 millones. Esto también sucedió en los otros dos grupos. Se observó un incremento en la cantidad de bacterias de la *Prevotella intermedia* (Tabla 40). No encontrándose diferencias estadísticamente significativas. (p=0,586).

Tabla 40: Evolución de la carga bacteriana de la Prevotella intermedia a las 4 semanas de los tratamientos.

			Tratamiento			
			RAR	LASER	TFD	Total
P.i_4sem	>20 millones a 40 millones	Recuento	1	1	2	4
		% de Tto	5,0%	5,0%	10,0%	6,7%
	>40 millones a 60 millones	Recuento	15	13	10	38
		% de Tto	75,0%	65,0%	50,0%	63,3%
	> 60 millones a 80 millones	Recuento	4	6	8	18
		% de Tto	20,0%	30,0%	40,0%	30,0%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Posteriormente, a las 8 semanas del estudio, se volvió a apreciar un incremento en el número de bacterias. Siendo más alto la carga bacteriana en los grupos II y III. Esto parece indicar que ninguno de los tres tratamientos RAR, Láser y TFD, fueron efectivos para la disminución de esta bacteria. (Tabla 41). No encontrándose de nuevo, diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,494$).

Tabla 41: Evolución de la carga bacteriana de la Prevotella intermedia a las 8 semanas del tratamiento.

			Tratamiento			
			RAR	LASER	TFD	Total
P.i_8sem	>20 millones a 40 millones	Recuento	0	1	1	2
		% de Tto	,0%	5,0%	5,0%	3,3%
	>40 millones a 60 millones	Recuento	12	7	8	27
		% de Tto	60,0%	35,0%	40,0%	45,0%
	> 60 millones a 80 millones	Recuento	8	12	11	31
		% de Tto	40,0%	60,0%	55,0%	51,7%
Total	Recuento		20	20	20	60
	% de Tto		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

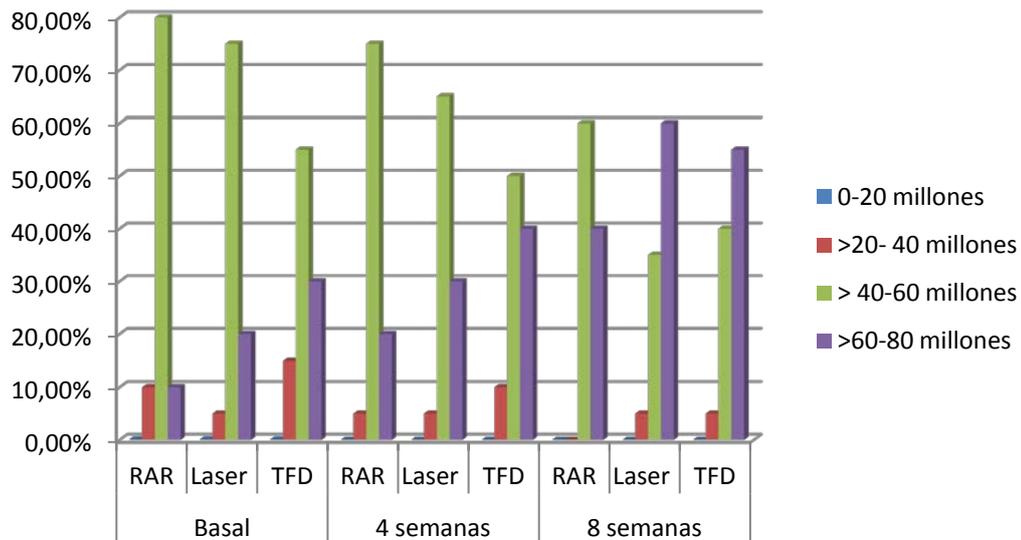


Gráfico 9: Evolución de la carga bacteriana de la *Prevotella intermedia* en los tres tratamientos a lo largo del estudio.

El Gráfico 9, nos muestra la evolución de la carga bacteriana de la *Prevotella intermedia*. La concentración fue aumentando paulatinamente a lo largo del tiempo. Observando un incremento importante en el número de bacterias. Siendo más considerable en el grupo de tratamiento láser y TFD. Lo que indica que para esta bacteria, estos tratamientos coadyuvantes no son efectivos en comparación con el tratamiento periodontal básico. Habría que realizar más estudios a lo largo del tiempo para saber la causa y ver si en algún momento seguiría incrementando su resultado o por el contrario iría en descenso.

3.5 Treponema Denticola: (*Td*)

Los resultados descriptivos de la evolución de la carga bacteriana para esta bacteria, parecen no haber variado mucho a lo largo del tiempo de los tratamientos. No se modificó la carga bacteriana a lo largo del estudio ni tampoco se observaron diferencias significativas en los diferentes tratamientos de RAR, Láser y TFD. Así, la carga bacteriana analizada antes de comenzar los tratamientos, fue de una media de 100.000 bacterias. (Tabla 42). Observándose mayor concentración de ellas en los grupos I y III. Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,091$).

Tabla 42: Evolución de la carga bacteriana de la *Treponema denticola* al comienzo del tratamiento.

			Tratamiento			
			RAR	LASER	TFD	Total
T.D_basal	0 a 100000	Recuento	5	11	5	21
		% de Tto	25,0%	55,0%	25,0%	35,0%
	>100000 a 200000	Recuento	15	8	15	38
		% de Tto	75,0%	40,0%	75,0%	63,3%
	> 200000 a 300000	Recuento	0	1	0	1
		% de Tto	,0%	5,0%	,0%	1,7%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

A las 4 semanas del comienzo del tratamiento, se realizó la toma de una segunda muestra de fluido Crevicular. Se observó un incremento en la carga genética de esta bacteria, siendo mayor en el grupo I RAR. (Tabla 43). Se mantuvo en los grupos de tratamientos una media de 150000 bacterias. Aunque se observó que podría producirse un incremento paulatino de la carga bacteriana de la *Treponema denticola*. Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,704$)

Tabla 43: Evolución de la carga bacteriana de la *Treponema denticola* a las 4 semanas del tratamiento.

			Tratamiento			
			RAR	LASER	TFD	Total
T.D_4sem	0 a 100000	Recuento	0	2	1	3
		% de Tto	,0%	10,0%	5,0%	5,0%
	>100000 a 200000	Recuento	14	13	14	41
		% de Tto	70,0%	65,0%	70,0%	68,3%
	> 200000 a 300000	Recuento	6	5	5	16
		% de Tto	30,0%	25,0%	25,0%	26,7%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Pasadas las 8 semanas del comienzo del estudio, se realizó un nuevo recuento para esta bacteria. Y volvimos a observar un aumento, esta vez ligero, en la carga bacteriana de la *Treponema denticola*. Siendo

prácticamente igual en los tres grupos de estudios, aunque más evidente en el grupo III TFD. Por lo que pensamos que si siguiéramos estudiando esta bacteria a lo largo del tiempo el resultado se iría incrementando. Además, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,821$).

A continuación, podemos apreciar en la Tabla 44 la información sobre la evolución de la bacteria *Treponema denticola* en la semana 8 del estudio.

Tabla 44: Evolución de la carga bacteriana de la *Treponema denticola* a las 8 semanas del tratamiento.

			Tratamiento			Total
			RAR	LASER	TFD	
T.D_8sem	0 a 100000	Recuento	0	1	1	2
		% de Tto	,0%	5,0%	5,0%	3,3%
	>100000 a 200000	Recuento	14	14	12	40
		% de Tto	70,0%	70,0%	60,0%	66,7%
	> 200000 a 300000	Recuento	6	5	7	18
		% de Tto	30,0%	25,0%	35,0%	30,0%
Total		Recuento	20	20	20	60
		% de Tto	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los tratamientos fue efectivo para la carga bacteriana producida por estas bacterias en los pacientes con periodontitis crónica. Siendo menos efectivo el tratamiento TFD del grupo III. (Gráfico 10).

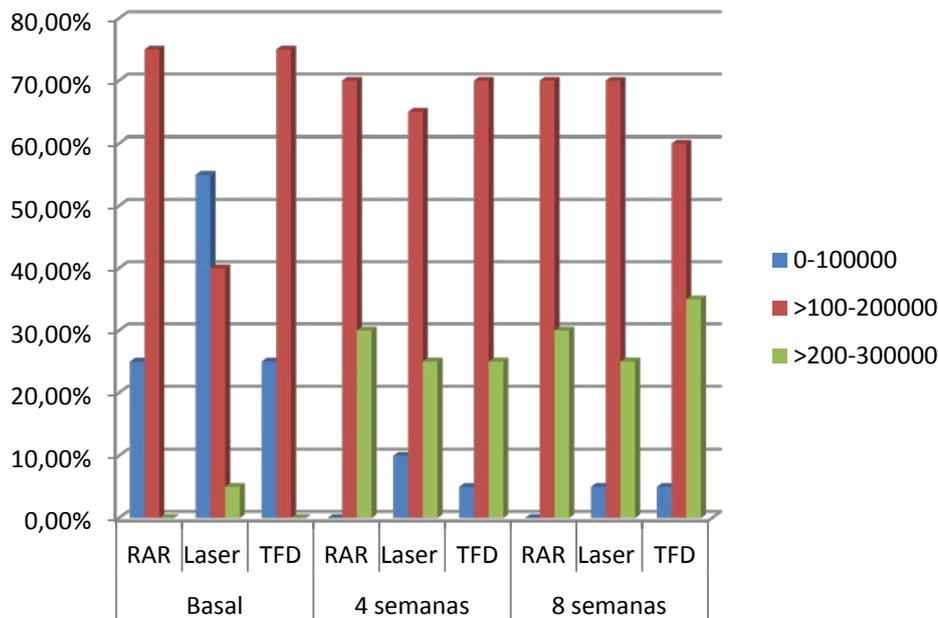


Gráfico 10: Evolución de la carga bacteriana de la *Treponema denticola* lo largo del estudio.

En resumen, podemos confirmar que el tratamiento básico al que se sometió el grupo I RAR, no modificó la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Pero si se redujo la carga bacteriana de esa bacteria en los tratamientos del grupo 2 LÁSER y grupo III TFD. Siendo ligeramente más efectiva el tratamiento con la sustancia fotoactiva de Indocianina verde EmunDo®. Encontrándose una diferencia estadísticamente significativa. El tratamiento de láser fue más efectivo que el de RAR. Por otro lado, tanto los tratamientos de RAR, LÁSER y TFD, han conseguido disminuir la carga bacteriana del *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia* hasta obtener niveles de carga bacteriana compatibles con un sujeto periodontalmente sano.

Ninguno de los tratamientos, parecen que hayan podido modificar la carga bacteriana de los otros grupos de bacterias, *Treponema denticola* y *Prevotella intermedia*. Siendo el grupo I de RAR básico, el más efectivo en cuanto a recuento de carga bacteriana. Lo que indica que el tratamiento coadyuvante, bien láser o bien con sustancia fotoactiva, no es efectivo para estas bacterias.

CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN.

DISCUSIÓN:

1. Justificación de la muestra, de la terapia coadyuvante y de los parámetros estudiados.

La muestra de pacientes periodontales del presente estudio, formada por 60 sujetos tiene unas características muy similares a las realizadas en el estudio de Escudero et al², de Braun¹⁰¹ y de Campos y cols.¹⁰²

Se realizó un estudio en pacientes con periodontitis crónica por su prevalencia alta.¹³⁴ A pesar de esto, la selección de la muestra fue complicada por las exigencias de los criterios de exclusión establecidos. Pues se especificaban que los pacientes que querían participar en este estudio, debían de ser sujetos sistémicamente sanos. Otro de los criterios fue que no debían de haber tomado o no deberían estar tomando ninguna medicación que pudiese alterar la evaluación del tratamiento. O incluso que no hubieran recibido tratamiento de raspado y alisado radicular en los últimos seis meses. Además, los pacientes no debían de ser fumadores. Esto es muy difícil de encontrar. Pues la mayoría de los pacientes afectados periodontalmente suele ser fumador de muchos años atrás.¹³⁵ Si bien, sus piezas dentales debían de tener un grado de movilidad medio-avanzado.¹³⁶ Por lo que fue necesario aumentar, el rango de edad, a 65 años.

Además el factor edad y ser fumador, suelen asociarse a la ingesta de algún fármaco y a menudo, pueden no presentar higiene bucal muy adecuada.^{137 138}

Así mismo, observamos otra dificultad. Muchos pacientes ya se encontraban en un programa de mantenimiento periodontal, por lo que era muy probable que hubieran recibido raspado y alisado radicular al menos cada 6 meses o seis meses antes.¹³⁹ Por eso, de los 275 pacientes que se recopilaban de las bases de datos, abandonaron o eliminamos los que no cumplían este criterio. Hasta un total de 120 pacientes, que si cumplían los requisitos y participarían en nuestro estudio. De ahí, se seleccionó los 60 primeros pacientes y posteriormente, 20 pacientes por cada grupo de comenzar el estudio. En general, esta fueron las limitaciones que dificultaron encontrar los pacientes periodontales crónicos adecuados para nuestro estudio.

Decidimos utilizar como terapia coadyuvante al RAR, el Láser y la TFD con una sustancia fotoactiva de indocianina verde (EmunDo®). Pues se tratan de unos tratamientos novedosos, no quirúrgicos, económicamente aceptables,¹⁴⁰ que no generan resistencia¹⁴¹ y que son inocuos sobre los tejidos dentarios.¹⁴² Además, han demostrado que son eficaces ante patógenos periodontales como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*,¹⁴³ bacteria con capacidad de invasión de los tejidos periodontales debido a que el agente fotosensibilizante atraviesa el epitelio y el tejido conectivo. Lo cual, fue demostrado al final de este estudio.

La realización del tratamiento de raspado y alisado radicular previo, siempre es fundamental,¹⁴⁴ porque la terapia fotodinámica no puede por sí sola eliminar el cálculo subgingival residual. El raspado y alisado radicular (RAR) es responsable de mantener una base para la nueva formación de biopelícula bacteriana.¹⁴⁵ Además, el RAR permite una desorganización de la biopelícula subgingival que supone un medio protector para los microorganismos. Facilitando las acciones de la terapia fotodinámica sobre las bacterias.¹⁴⁶

La importancia de una terapia de mantenimiento periodontal radica en el control de recolonización de la flora bacteriana. Entre los tres y siete días postratamiento, se crea un crecimiento temprano y se produce una nueva recolonización en las bolsas periodontales. La microflora subgingival se encuentra alterada.¹⁴⁷ Sin embargo, las bacterias periodontopatógenas no se reorganizan en una nueva biopelícula hasta aproximadamente 60 días tras el RAR.¹⁴⁶ Por lo que es importante mantener al paciente estable periodontalmente para el éxito del tratamiento.

La terapia fotodinámica, se usa para evitar la reorganización de la biopelícula al erradicar los patógenos periodontales.^{100,101} Por lo que elegimos tratar a los pacientes con laser por conseguir eliminar la mayor cantidad de bacterias.¹⁴⁸

A las ventajas anteriores, pueden añadirse los efectos positivos en la cicatrización de los tejidos blandos y óseos y en la inflamación.¹⁴⁹ Así como la capacidad disminución de la hipersensibilidad dentaria y el dolor postratamiento. Por otra parte, hemos querido comprobar en nuestro estudio el agente fotosensibilizador (indocianina verde, EmunDo®) y el láser conjuntamente, con el objetivo de mejorar y producir cambios clínicos, y destruir las bacterias dentro de la bolsa periodontal.^{150,151}

Aunque parece ser que en la literatura se afirma que el tratamiento láser por sí solo no produce efectos bactericidas amplios, como para destruir una gran cantidad de bacterias.¹⁵²

La elección de los parámetros clínicos, bioquímicos y microbiológicos en nuestro estudio, es debido a que la periodontitis se considera una enfermedad de origen inflamatorio producida por la respuesta de la inmunidad a la presencia de bacterias periodontopatógenas. Por lo que se intenta demostrar si la terapia fotodinámica es capaz de mejorar alguno de estos parámetros respecto a la terapia convencional básica (RAR).

2. Evolución de los parámetros en el tratamiento de la periodontitis. Efecto de la terapia fotodinámica.

2.1 Evolución de los parámetros clínicos en el tratamiento de la periodontitis. Efecto de la terapia fotodinámica:

El objetivo principal del estudio ha sido el de evaluar la efectividad del tratamiento de la terapia fotodinámica en pacientes con periodontitis crónica generalizada. Para ello, se ha determinado el efecto del RAR sobre los parámetros clínicos y microbiológicos. Y se han comparado su efecto en combinación con el láser, y con terapia fotodinámica con una sustancia fotoactiva de indocianina verde (EmunDo®)¹⁵³.

Las determinaciones microbiológicas se han realizado tomando muestras del fluido Crevicular de cada paciente. Siempre usando las mismas localizaciones a lo largo de todo el estudio. Es decir, en la semana 1, la semana 4 y posteriormente la 8.

Los parámetros clínicos constituyen un indicativo de efectividad en los tratamientos realizados. En este sentido, los resultados indican que los pacientes afectados con periodontitis crónica presentan un aumento de la profundidad de sondaje así como un aumento del sangrado al sondaje, recesión clínica, índice de placa y volumen de fluido Crevicular. Igualmente, se encontraba incrementado el grado de afectación de furca, grado de movilidad y nivel de inserción clínica.

Comenzando por el tratamiento periodontal básico, éste producía una mejora significativa en el índice de placa, profundidad de sondaje y el sangrado al sondaje. No había cambios en la movilidad de los dientes ni en el grado de afectación de furca. Pero si se contemplaba un aumento en el nivel de recesión clínica y un aumento del nivel de inserción. Esto es debido a que, como consecuencia de una disminución en la profundidad de sondaje,^{154,155} se vuelve a crear una adherencia epitelial larga.^{156 157} Los resultados coinciden con estudios previos contemplados previamente como los de *Ewen y cols*,¹⁵⁸ Y coinciden en la evolución de un tratamiento periodontal básico como en el estudio de *Christgau y cols*.¹⁵⁹

Los resultados sobre el índice de placa eran prácticamente homogéneos para los tres grupos de estudios. En cualquiera de los tres grupos, los pacientes comenzaban con un valor medio de 2, es decir, bastante placa y cálculo en las bolsas periodontales. A las 4 semanas del tratamiento, cualquiera de los tres grupos coincidía en una mejora del índice de placa, que variaba entre 0 y 1. Suponemos que la implicación del paciente en el estudio, a nivel de higiene oral, era lo que hacía que se mantuviera esa disminución. Además, el clínico que realizaba los periodontogramas y cultivos, siempre finalizaba la visita con un recordatorio sobre la higiene oral.

A las 8 semanas del estudio, el índice de placa había disminuido ligeramente en cualquiera de los tres tratamientos. Se daba una disminución hasta grado o categoría 0 de nivel de placa, de algunos pacientes ligeramente mayor en el tratamiento de Láser (grupo 2). Esto es debido a que el calor que irradia el láser, debilita la membrana de la bacteria y la elimina. Además, evita la reorganización de la Biopelícula. Sin embargo se ha demostrado que la terapia coadyuvante de láser no puede eliminar por sí sola toda la Biopelícula en la que se organiza la placa bacteriana.¹⁴⁶ Por lo que seguimos manteniendo que es debido al grado de motivación de la higiene individual de cada uno y que es una casualidad, o fruto del azar, que haya mejores resultados en el grupo II.

Por otro lado, los efectos de los tratamientos sobre la profundidad de sondaje fueron prácticamente inmediatos. Al eliminar la placa y el cálculo subgingival, se producía una disminución de la inflamación de los tejidos de soporte, por lo que la profundidad de sondaje disminuía. Era necesaria una correcta higiene bucal

para que no se volvieran a producir las condiciones iniciales del estudio. Al comienzo del estudio, la media de profundidad de sondaje que tenían la mayoría de los participantes, independientemente del grupo al que pertenecieran, era de 5mm. Al mes, se produjo una reducción media de 4 mm siendo más efectiva en el tercer grupo de terapia fotodinámica. A las 8 semanas del estudio, disminuía otro milímetro más de media, es decir, se establecía una profundidad de sondaje de 3mm. Y se volvió a advertir una efectividad mayor en terapia con laser. Pero similares con sustancia fotoactiva que sin ella.

Estos resultados coinciden cualitativamente con los resultados observados en los trabajos descritos anteriormente, por *Shapira L. y Lang NP.*,^{155,156} donde se observa una media de reducción de profundidad de sondaje de 2mm.

Aunque analizando las profundidades de sondaje de cada uno de los grupos de estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, si lo hicimos al analizar esta variable a lo largo del tiempo dentro de cada uno de los tratamientos. Todas las p fueron $<0,001$, lo que indica que si hubo una diferencia estadísticamente muy significativa. Los tres grupos alcanzaron el objetivo de reducción de la profundidad de sondaje. Si bien, fue el tercer grupo el que alcanzó mejores resultados. Esto podría deberse a que con el tratamiento de terapia fotodinámica se accede mejor a las zonas más profundas de la bolsa, que no se alcanzan realizando solamente raspado. Y además sabemos que la sustancia fotoactiva, al ser activada por la radiación de láser a una longitud de onda, desencadena una reacción citotóxica que dañan las membranas citoplasmáticas de las células bacterianas.⁷⁷⁻⁸¹ Destruyéndolas o causando daños irreversibles. Al no haber patógenos periodontales, la variable clínica de profundidad de sondaje se verá disminuida.

El sangrado al sondaje evolucionó de una forma similar a la profundidad de sondaje. En la primera semana del estudio, independientemente del grupo al que perteneciera el paciente, se obtuvo un índice de sangrado al sondaje de media 2. Al mes del tratamiento se produjo una nueva reducción del sangrado a nivel 1. Significa que se ha reducido el sangrado, pudiendo sangrar en algún punto, pero sin haber cálculo. Se observó una ligera disminución del sangrado en pacientes del grupo 1 RAR. Puede ser debido a la motivación del

paciente en cuestiones de higiene oral. Es decir, que las diferencias encontradas podrían ser explicadas por el azar.

A las 8 semanas del estudio, se produjo otra mejora significativa. Se redujo otro punto el sangrado al sondaje. Esta vez a 0. Fue mayor en pacientes tratados del grupo II y III. Tanto en pacientes tratados solo con láser como tratados con la indocianina verde. Por lo que pensamos que la mejora de higiene con el paso del tiempo y la acción de la terapia fotodinámica en las bolsas periodontales evitando que se reorganicen a Bio-película, tenga algo que ver.

El grado de recesión clínica al comienzo del tratamiento en cualquiera de los tres grupos de estudio era de 0. A las 4 semanas del comienzo del estudio la recesión varió y aumentó entre 1 y 2mm de media. Y a las 8 semanas se mantuvo a 2 mm de recesión clínica. Esto es debido a la disminución de inflamación de la bolsa periodontal. Se vio más afectado el grupo III de terapia fotodinámica. Que haya mayor recesión en este grupo, es debido a los efectos positivos del uso de la terapia fotodinámica en cuanto a la disminución de la inflamación y a la mejora de la cicatrización de los tejidos blandos. Además de disminuir la hipersensibilidad dentaria y el dolor postratamiento.

Esto se explica en los estudios realizados por *Bjordan JM y cols*,¹⁵⁰ donde afirman que los tratamientos con fotorradiación pueden modular los procesos inflamatorios de una manera dependiente de la dosis dada. Y puede ser usada, para reducir significativamente el dolor inflamatorio agudo en situaciones clínicas. En este caso, tras el tratamiento de raspado y alisado radicular y uso de láser para mejorar la cicatrización y crear una nueva adherencia epitelial.

La variable de recesión clínica, no fue estadísticamente significativa en nuestro estudio. Aunque probablemente, incrementando el tamaño muestral podría verificarse si realmente es significativo que en el grupo de estudio III, (Terapia fotodinámica), sea mayor la variable de recesión que en los otros dos grupos. (Obtuvimos un valor $p=0,072$).

El nivel de inserción clínica también varió. Con una media en los tres grupos de 6 mm, a las 4 semanas del estudio, disminuyó el nivel de inserción a 5,3 mm mayoritariamente. Disminuyó un poco más en el grupo III (EmunDo®). A las 8 semanas del estudio mejoró a modo general en los tres grupos pero ligeramente más en el grupo III. (5mm en grupo III, frente a 5,1 mm de media el grupo I y II).

Aquí, se vuelve a dar una ventaja del tratamiento de la terapia fotodinámica con respecto a los otros dos. Se observa que el nivel de inserción clínica alcanzó su mejoría en los grupos de RAR y láser a las 8 semanas del estudio. Algo que la terapia fotodinámica, alcanzó su mejoría a las 4 semanas que se mantuvo hasta el final. La mejora del nivel de inserción clínica en el tratamiento de la terapia fotodinámica tiene que ver también con la eficacia de ésta, con respecto al tratamiento de raspado y alisado radicular. Mejora la cicatrización y adherencia epitelial. Y está relacionado con la disminución en la profundidad de sondaje y en el incremento de la recesión.

En cuanto al grado de movilidad y grado de afectación de furca, los pacientes afectados con periodontitis crónica poseen valores aumentados si los comparamos con pacientes clínicamente sanos. Así no se observaron diferencias significativas entre los tres diferentes grupos de estudios ni con los diferentes tratamientos. No se modificaron los parámetros de inicio.

Del análisis de los resultados de los parámetros clínicos, podemos deducir que en nuestras condiciones experimentales los tratamientos combinados con láser y con la sustancia fotodinámica EmunDo®, no mejoran claramente los parámetros clínicos estudiados. Solamente se observa diferencias pero son muy ligeras en los variables clínicas profundidad de bolsa y sangrado al sondaje. Produciéndose una ligera reducción de ellas.

Uno de los problemas en la evaluación de la eficacia de la Terapia fotodinámica, es la falta de consenso a la hora de determinar el calendario o esquema de tratamiento a seguir que permita llegar a mejores resultados. Aunque hay alguna orientación en los experimentos previos, persisten los resultados contradictorios en términos de los resultados clínicos obtenidos. Más aún, hay grandes diferencias en la literatura publicada,

respecto a métodos experimentales, poblaciones estudiadas, sustancias fotosensibilizadoras y condiciones de la irradiación.

En la mayor parte de estudios descritos en la literatura, se han evaluado los resultados de la terapia fotodinámica en una única aplicación, posterior al tratamiento de RAR. Como en los estudios de *Braun y cols.*¹⁶⁰; *Polansky y cols.*,¹⁶¹ *Chondros y cols.*,¹⁶² y *Ramos de Oliveira y cols.*¹⁶³ Además de los otros estudios pertenecientes a la Tabla 7 y Tabla 8 en el capítulo de introducción.

Mientras que, son escasos los estudios que han evaluado los resultados en aplicaciones repetidas de TFD. Como los de *Franco*,¹⁰³ *Yilmaz*,¹⁰⁴ *Lulic*,¹⁶⁴ y *Ge y cols.*¹⁶⁵.

En los estudios encontrados donde se realizaban una sola aplicación e irrigando en bolsa la sustancia fotosensibilizante, se han encontrado alguna eficacia en las mejoras de los parámetros clínicos.

En el estudio realizado por *Andersen y cols.*,¹¹² se observa mejoría de las variables de profundidad de sondaje y nivel de inserción clínica. Aunque el estudio se realizó con el fotosensibilizante de cloruro de fenazationio. La duración al igual que nuestro estudio, fue de tres meses.

Christodoulides y cols.,¹⁰⁸ solo encontró una variación en el sangrado al sondaje. En las demás variables clínicas estudiadas no encontró ninguna diferencia significativa. La duración de este estudio fue mayor que la nuestra de 6 meses.

Braun y cols.,¹⁰¹ con un estudio a tres meses, si encontraron beneficios en el tratamiento del raspado y alisado radicular con terapia fotodinámica. Vieron que mejoraban todas las variables clínicas estudiadas por nosotros salvo en el grado de recesión. Que no hubo variación.

Sigush y cols.,¹¹³ con un estudio a 3 meses, irrigando en bolsa con cloruro de fenazationio lograron que con el tratamiento de TFD, mejoraran los parámetros clínicos salvo el de las recesiones.

Los estudios realizados por *Berakdar y cols.*¹¹⁴, durante 6 meses, solo indican que hay efectividad en el tratamiento de la TFD, en el parámetro clínico de PS. En el resto no.

Sin embargo, los estudios consultados de *Campos y cols.*¹⁰² y *Alwaeli y cols.*¹⁰⁵ si se observan variaciones en los parámetros clínicos estudiados por nosotros. Además en todos. Con una duración de 3 y 12 meses de estudio respectivamente, ellos si encontraron efectividad de la terapia fotodinámica en las variables de profundidad de sondaje, sangrado al sondaje, nivel de inserción clínica, movilidad, furca e índice de placa. Los resultados están en la línea de lo esperado.

Mientras algunos estudios, como los de *Dilsiz et al* y *Pourabbas et al.*^{107,108} no muestran que la terapia fotodinámica coadyuvado por el raspado y alisado radicular, mejoren los parámetros clínicos comparados con el tratamiento RAR. Tampoco lo hacen los estudios realizados por *Gómez y cols.*¹⁰⁹ *Theodoro y cols.*¹⁰⁶ y *Carvalho y cols.*¹⁰⁷

A pesar de los numerosos estudios que hay, no es posible realizar una comparación completa entre ellos, debido a que hay variaciones en las condiciones de aplicación de la TFD (una o varias sesiones, y otros agentes fotosensibilizantes) o en el diseño experimental.¹⁶⁶

2.2 Evolución de los parámetros microbiológicos en el tratamiento de la periodontitis. Terapia fotodinámica.

El estudio de las variables microbiológicas se realizó en el fluido Crevicular, determinando los niveles de expresión génica de las bacterias implicadas en la periodontitis crónica a través de la PCR- real time. Cuando se estudiaron los parámetros clínicos, nuestros resultados revelaron diferencias entre los pacientes del grupo RAR con los otros dos de láser y TFD. Mejoraron en el grupo de tratamiento III, (el de terapia fotodinámica), los parámetros de profundidad de sondaje, sangrado al sondaje, recesión clínica Y nivel de inserción clínica. A nivel microbiológico, los resultados de los grupos de tratamiento variaron.

Si hablamos de la bacteria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, se observó una reducción significativa del *A.a* en los pacientes tratados con láser. Y más aún en los pacientes del grupo III, TFD. (EmunDo®). En los pacientes tratados simplemente con RAR no se modificó la carga bacteriana del *A. actinomycetemcomitans*.

A las 4 semanas después de los tratamientos, los resultados que nos dieron las muestras tomadas en el interior de las bolsas periodontales; indicaron que en el grupo I, donde solo se realizó tratamientos de desbridamiento de la bolsa con raspado y alisado radicular; la concentración de esta bacteria no disminuyó como en los otros grupos. Un 80% de la concentración de la *A.a* se encontraba entre 40.000-60.000 bacterias. Mientras en los grupos II y III, tratados con Láser y con la sustancia fotoactiva respectivamente, habían disminuido hasta encontrarse en el rango de <20.000 bacterias.

Posteriormente, a las 8 semanas postratamiento, volvimos a tener unos magníficos resultados en los grupos II y III. Obtuvimos unos niveles del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, muy bajos. Prácticamente ausentes. Siendo más efectivo el tratamiento en el grupo III, TFD (EmunDo®); siempre coadyuvado previamente con un tratamiento de raspado y alisado radicular. El grupo I RAR, siguió manteniendo los mismos niveles del *A.a* que la muestra tomada a las 4 semanas del tratamiento.

Estas diferencias son debidas a que el agente fotosensibilizante, indocianina verde (EmunDo®), usado en combinación con el calor del laser, atraviesa el epitelio y tejido conectivo y destruye la bacteria.¹⁷⁴ Coincide con los estudios realizados por *Wilson y cols.*^{34,85,89,90,91} La carga bacteriana del *A.a* es resistente al tratamiento periodontal básico con RAR. Justificaría el uso de la TFD como terapia complementaria puesto que aumenta la efectividad.

*Chan Y y Lai CH,*¹⁶⁷ en sus estudios realizados in vitro, demostraron que el uso de agentes fotosensibilizadores a una longitud de onda específica, reducían de manera significativa el nivel de bacterias. Y además no producía daños en los tejidos periodontales.¹⁶⁸

La evolución de la carga bacteriana de la *Porphyromonas Gingivalis* alcanzó resultados muy óptimos. La *P.g* es una de las bacterias más patogénicas a nivel periodontal. Según los estudios de Socransky¹⁸ en 1998, donde se estudiaron más 40 especies subgingivales, la *P.g* se encuentra dentro del grupo o complejo de color rojo; donde se agrupan las bacterias que se asocian a un mayor sangrado al sondaje y mayor profundidad de sondaje. Con lo cual, encontrar valores mínimos de esta especie tras el estudio fue muy óptimo. Los datos analizados, nos proporcionaron unos valores tan bajos tras las muestras de fluido en la 4ª y 8ª semana, que

nos mostraron una disminución significativa en los tres grupos; hasta alcanzar valores propios de individuos sanos. No encontramos diferencias entre ellos. Cualquiera de los tres tratamientos fue efectivo para la eliminación de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en los tres meses que duró el estudio.

Si comparamos con otros estudios in vivo de los cultivos microbiológicos revisados en la literatura, no se obtienen resultados similares. Como los estudios de *Gómez y Domínguez*.¹⁰⁹ donde se habla de la principal ventaja de la terapia fotodinámica como modalidad de tratamiento antimicrobiano.

Ésta posee un mecanismo bactericida no específico que hace muy poco probable el desarrollo de resistencia a la acción citotóxica de oxígeno singlete o de los radicales libres. Y es igualmente eficaz, contra bacterias resistentes a los antibióticos como a las susceptibles a los mismos. Además la repetida fotosensibilización no induce a la selección de cepas resistentes. Los resultados de los estudios realizados por *Gómez y Domínguez*,¹⁰⁹ no indican una disminución del número de bacterias de la *Porphyromonas gingivalis* sino al revés. Se observa un descenso a las 4 semanas, para luego ir en aumento 4 semanas después.

Cabría esperar que, la sustancia fotoactiva activada con láser a una longitud de onda, invadiría la membrana citoplasmática de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* al igual que lo hizo con la *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Pero esto no ocurrió. Y el número de bacterias de la *Porphyromonas gingivalis*, dentro de la bolsa, fue en aumento.

Por otro lado, si hemos encontrados estudios que coinciden con lo relacionado a nuestro estudio. Como por ejemplo, los estudios revisados de *Lamont y cols*,¹⁶⁹ donde se habla de la *Porphyromonas gingivalis* como un anaerobio Gram-negativo, como un agente etiológico importante en el inicio y la progresión de las formas graves de la enfermedad periodontal y como un patógeno oportunista. Y como los estudios revisados de *Noro y Casarin*¹⁷⁰. Coincidimos con ellos; y es que el tratamiento periodontal básico como es el raspado y alisado radicular, resulta ser capaz y suficiente para disminuir por sí solo la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis*.

En relación a los resultados obtenidos de la *Tannerella forsythia*, (T.f) fueron parecidos a los obtenidos con la *Porphyromonas gingivalis*. Aunque al principio del estudio los valores fueran altos, entre 60 y 80 millones de bacterias, esto se fue disminuyendo tras realizar los tratamientos en los tres grupos. Se obtuvieron, al cabo de las ocho semanas, niveles compatibles con individuos periodontalmente sanos. En cualquiera de los tres grupos de tratamiento. Por lo que parece indicar que si se realiza un buen tratamiento periodontal, coadyuvante o no con láser e incluso una sustancia fotosensible, es posible la eliminación de esta bacteria. La causa puede ser, que la penetración sobre la estructura molecular de la *Porphyromonas gingivalis* y de la *Tannerella forsythia* sea menor que para la *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Por lo que solo el tratamiento de raspado y alisado radicular es suficiente para eliminar o disminuir la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivalis* y de la *Tannerella forsythia*.^{169,170}

En cuanto a los resultados obtenidos de la carga bacteriana perteneciente a la *Prevotella intermedia* y a la *Treponema denticola* se produjo una variación. Los resultados al final del estudio se encontraron incrementados. Por lo que indicó que, ni el tratamiento raspado ni alisado radicular, ni los tratamientos de láser solo ni el de terapia fotodinámica, son efectivos para la eliminación de estas bacterias. Aunque se encontró menos incrementado la carga bacteriana perteneciente al grupo de raspado y alisado radicular. El aumento paulatino del número de bacterias, podría ser debido a que las bacterias se localizan en múltiples zonas de la cavidad oral.¹⁷¹

Se hallan en otros reservorios; como en la superficie radicular, lengua, mucosa yugal así como paladar y amígdalas.¹⁷² Por lo que la completa eliminación de estas bacterias con cualquiera de los tres tipos de tratamientos es insuficiente. Ya que este estudio solo se centra en eliminar estas bacterias dentro de la bolsa periodontal y no en otros nichos. Por lo que serán necesarios estudios complementarios para saber cuál sería el tratamiento más efectivo para eliminar estas bacterias. Estos resultados coinciden con el estudio realizado por *Carvalho y cols*,¹⁰⁷ donde también se observa un aumento de la bacteria *Treponema denticola* y de la *Prevotella intermedia*.

Diversos estudios demuestran que las bacterias Gram positivas son susceptibles a la inactivación fotodinámica mientras que las Gram negativas son muy resistentes a muchos de los agentes fotosensibilizadores utilizados en terapia fotodinámica.¹⁷³ Por lo que esto explicaría los resultados obtenidos. Además, nosotros hemos utilizado como sustancia fotoactiva la indocianina verde,¹⁷⁴ en vez del azul de metileno con el que la mayoría de los autores realizan sus tratamientos de terapia fotodinámica.⁹⁶⁻⁹⁹

La indocianina verde cuando se activa produce radicales libres y oxígeno singlete, cuyas reacciones producen daño irreversible en las membranas citoplasmáticas de las bacterias, incluyendo la modificación de proteínas, la ruptura de la cadena respiratoria y alteraciones de los ácidos nucleicos.¹⁷⁴

Estos resultados son difíciles de interpretar debido a la gran variedad de protocolos utilizados en estudios similares. Necesitamos más estudios controlados aleatorizados a largo plazo para corroborar que la terapia fotodinámica es más efectiva en todos los parámetros clínicos y microbiológicos. Antes de llegar a la conclusión que la terapia fotodinámica es muy efectiva en el tratamiento de periodontitis crónica.

Además, no existe una pauta real más efectiva sobre la programación de las longitudes de onda y el mejor agente fotosensibilizador, así como la concentración y el tiempo de actuación de éste. Como tampoco sabemos cuál es la dosis óptima de energía del láser, la duración de la radiación y las aplicaciones en número de la TFD.

Por lo que es necesario crear un protocolo reglado, que hasta la fecha, no existe, de pautas de actuación para usar la terapia fotodinámica de forma complementaria y eficaz con el tratamiento periodontal básico. Esto es, el RAR.

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES:

1. En nuestro estudio, no existen datos concluyentes que puedan afirmar que la terapia fotodinámica coadyuvante con el raspado y alisado radicular sea más efectiva que la terapia periodontal básica. Por lo que será necesario realizar más estudios a largo plazo, para poder afirmar este efecto.
2. En relación a los parámetros microbiológicos del estudio, en el tratamiento de la terapia fotodinámica coadyuvante con el raspado y alisado radicular; disminuye la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Y produce una reducción de la carga bacteriana de la *Porphyromonas gingivales* y *Tannerella Forsythia*. Sin embargo, no modifica la carga bacteriana de la *Treponema denticola* y *Prevotella intermedia*; apareciendo incluso un incremento.
3. El tratamiento periodontal de raspado y alisado radicular, produce por sí solo, una disminución de la carga bacteriana de *Porphyromonas Gingivalis* y *Tannerella forsythia* sin modificación de la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
4. La terapia fotodinámica, usada con el agente fotosensibilizante indocianina verde, resulta ser algo más efectiva en la disminución de diversos parámetros clínicos periodontales. Mejorando los parámetros de profundidad de sondaje y de sangrado al sondaje. Así como, recesión clínica y nivel de inserción clínica. Sin embargo, los parámetros clínicos de las variables pertenecientes a movilidad dental y grado de afectación de furca, no se modifican en ninguno de los tratamientos realizados.
5. En el tratamiento periodontal básico de raspado y alisado radicular, solo hemos encontrado una mejora del nivel de inserción clínica debido a la disminución de la profundidad de sondaje.

6. En el uso del láser como tratamiento coadyuvante al tratamiento periodontal básico, se han observado una mejoría en el análisis de los parámetros clínicos de profundidad de sondaje y sangrado al sondaje. Como también a nivel microbiológico; logrando a una disminución de la carga bacteriana del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*.

CAPÍTULO VIII: ANEXOS.

ANEXO 1:

Documento de consentimiento informado de participación en el estudio

Hoja de información para el paciente.

Título del proyecto:

Reducción de la flora periodontal mediante terapia fotodinámica. Estudio comparativo.

Introducción:

Nos gustaría que considerara su participación en este estudio. Por favor lea atentamente la siguiente información y tómese el tiempo necesario para decidir si desea o no participar.

Gracias de antemano.

¿Cuál es el objetivo del estudio?

Este estudio tiene como finalidad principal la obtención de una amplia información acerca de los resultados clínicos de la enfermedad periodontal que usted padece y en concreto estudiar qué tipo de tratamiento es más eficaz. En concreto, queremos valorar la eficacia de la terapia fotodinámica con un agente o sustancia fotodinámica. Esto es, un tratamiento seguro y con un excelente resultado.

Si decide participar en el estudio deberá asistir a la consulta varias veces. Se le realizará una radiográfica panorámica, un periodontograma y le tomarán muestras microbiológicas en su boca. Esto será en una primera visita. Usted deberá acudir tres veces más durante el estudio. Esto es algo que, de todas formas tendrá que acudir a la consulta. Por tratarse de revisiones tras los tratamientos.

Se trata de un estudio donde queremos comparar la eficacia de un tratamiento en la enfermedad periodontal que usted tiene.

Podremos realizar tres tipos de tratamientos en su boca.

1. Raspado y alisado radicular convencional.
2. Raspado y alisado radicular con terapia laser.
3. Raspado y alisado radicular con terapia laser más una sustancia fotoactiva.

Cualquier tipo de tratamiento que empleemos en usted es eficaz, pero queremos ver cuál de ellos es más eficaz. Se le realizará el tratamiento, y le daremos pautas a seguir durante el mes siguiente.

Al mes, usted tendrá que volver, le revisaremos de nuevo y le tomaremos una nueva muestra microbiológica para valorar la reducción de la flora periodontal tras el tratamiento.

Le volveremos a ver dos meses más tarde, es decir, al tercer mes, donde volveremos a reevaluar con otro periodontograma (le volveremos a medir la bolsas periodontales que usted tiene), y se tomará una nueva muestra microbiológica.

Aquí terminara el estudio, aunque usted tendrá que seguir acudiendo a sus revisiones rutinarias que indique el odontólogo.

¿Estoy obligado a participar?

Puede usted decidir si desea o no participar. Si accede a tomar parte del estudio, se le entregará una copia de este documento informativo para que lo guarde y se le pedirá que firme un consentimiento. Esta decisión no afectará a los cuidados que reciba ni a su tratamiento.

¿Qué ocurrirá si decido participar?

Si decide participar, su odontólogo recogerá una serie de datos generales, a partir de los datos de su historial médico, siendo citado un jueves o un viernes, para realizarle el periodontograma y posteriormente realizar el tratamiento sobre usted.

Se le enseñarán unas técnicas de higiene y uso del hilo dental y cepillo interproximal.

No deberá cambiar la pasta de dientes durante los tres meses del estudio, ni usar ningún colutorio para evitar modificaciones en los resultados.

Le haremos tres cultivos microbiológicos en su boca durante los tres meses de duración del estudio. Y usted se comprometerá a seguir las indicaciones que le dé el odontólogo y a acudir a las citas.

Confidencialidad:

Si desea participar en este estudio su identidad permanecerá en el anonimato. Todos sus datos son confidenciales, pudiendo ser inspeccionados por personal cualificado para analizar los resultados.

El derecho a la protección de datos:

El estudio requiere la recogida de datos personales. Algunos de estos datos son de carácter general (edad, peso...) y otros están relacionados con la salud (historia clínica, estado físico...). Mediante la firma del consentimiento informado Ud. autoriza dicha recogida y tratamientos de datos. El tratamiento de dichos datos se llevará a cabo de acuerdo con la legislación aplicable en materia de privacidad. Se cumplirá en todo momento con lo establecido por la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal. Se adoptaran las medidas oportunas para garantizar la debida protección de los datos en todo momento, sin violación alguna de la confidencialidad. Usted tiene derecho a pedir que le sean desvelados aquellos datos personales mantenidos de forma identificable, así como a solicitar la rectificación de cualquier dato incorrecto o incompleto. Ni usted ni ninguna otra persona que pueda ver los resultados del estudio podrá identificar a las personas que han participado en el mismo.

Gracias por su atención. Si accede a participar en este estudio, su odontólogo le entregará una copia de esta hoja de información y una copia firmada del formulario de consentimiento.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO PARA EL PACIENTE

Título del proyecto: Estudio de la flora periodontal mediante terapia fotodinámica. Estudio comparativo.

Nombre del paciente.....

1. Confirmando que he leído y comprendido la hoja informativa del estudio referido y se me ha entregado una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento informado.....
2. Se me ha concedido tiempo y la oportunidad de formular preguntas sobre el estudio y todas ellas han quedado contestadas.....
3. Comprendo que mi participación es voluntaria y que soy libre de retirar el consentimiento en cualquier momento, sin necesidad de ofrecer ninguna razón y sin que ello afecte a mis derechos legales ni a mi tratamiento odontológico en el futuro.....
4. Soy consciente de que, al participar en el estudio, se recogerán y procesarán datos personales confidenciales. Se me ha informado con detalle de los motivos por lo que se recogen y procesan estos datos y de quien tendrá acceso a estos datos y se me ha explicado que tengo derecho a acceder a esta información y a rectificarla.....
5. Comprendo que mis ficheros médicos podrán ser revisados por las personas designadas para analizar los datos.....
6. Accedo a participar en el estudio mencionado y autorizo la recogida, procesamiento y transferencia de mis datos personales.....

Nombre y apellido del paciente

fecha

firma

Confirmando que he explicado la naturaleza, los objetivos y los efectos previsibles del estudio a la persona cuyo nombre figura arriba. La persona expresó su consentimiento firmando y fechando este documento

Odontólogo

(Identificarse con nombre apellido y tfno. contacto)

fecha

firma

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES:

Ilustración 1: Clasificación de las enfermedades periodontales. Workshop 1999. Lindhe 2000.	13
Ilustración 2: Mecanismo de defensa específicos.....	18
Ilustración 3: Corte histológico de lesión inicial y temprana.	20
Ilustración 4: Cortes histológicos lesión establecida y avanzada.....	22
Ilustración 5: Creación del Biofilm en la placa dental. www.dentalcare.es	25
Ilustración 6: Grupos de especies subgingivales según el estudio Socransky de 1999. Periodoncia clínica e Implantología odontológica. Lindhe. Editorial médica panamericana.	26
Ilustración 7: Ultrasonidos PerioScan utilizado en el tratamiento Grupo I.	68
Ilustración 8: Sonda periodontal y Curetas Gracey utilizadas durante el estudio.	69
Ilustración 9: Láser diodo Fox y producto fotosensibilizante EmunDo®.....	70
Ilustración 10: Material para muestras de fluido Crevicular.....	71
Ilustración 11: Cepillos interproximales y colutorios de clorhexidina Perioaid al 0.2%.	73
Ilustración 12: Tamaños de cepillos interproximales marca Lacer® para el estudio.	73
Ilustración 13: Ultrasonidos PerioScan utilizado en el tratamiento Grupo I.	74
Ilustración 14: Sonda periodontal y Curetas Gracey utilizadas durante el estudio.	75
Ilustración 15: Laser Fox y producto Emundo® utilizado para el estudio.	76

Ilustración 16: Fotosensibilizador usado durante el tratamiento y su posterior retirada del colorante.	77
Ilustración 17: Procedimiento de toma de muestras de fluido Crevicular.	78
Ilustración 18: Formas de actuación del sistema SYBR Green	82
Ilustración 19: Imagen de Termociclador 7900HT Fast Real Time PCR System®	84
Ilustración 20: Condiciones del termociclador para el <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	85
Ilustración 21: Curva de amplificación del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> por el Real Time- PCR.	86
Ilustración 22: Curva estándar del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	87

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1: Periodontitis del adulto.....	15
Tabla 2: Periodontitis del adulto en 1989.....	15
Tabla 3: Descripción periodontitis crónica.....	16
Tabla 4: factores que influyen en el proceso de la enfermedad periodontal.....	23
Tabla 5: Representación esquemática de las modalidades de tratamiento y sus secuencias de uso en el manejo de las bolsas periodontales.	32
Tabla 6: Vías de reacción del agente fotosensibilizador activado. www.sepa.es	44
Tabla 7: Estudios realizados de TFD.	50
Tabla 8: Estudios realizados en los últimos años sobre TFD.....	51
Tabla 9: Diagrama fases estudio	63
Tabla 10: Secuencia de cebadores reverse y forward utilizados para cada bacteria	84
Tabla 11 : Tabla de evolución de los parámetros de las variables edad y sexo en los tres grupos de estudio.....	91
Tabla 12: Tabla de evolución de los parámetros de índice de placa antes de comenzar el tratamiento en los tres grupos de estudio.....	92
Tabla 13: Evolución de los parámetros de índice de placa a las 4 semanas del tratamiento.....	93
Tabla 14: Evolución de los parámetros de índice de placa a las 8 semanas del tratamiento en los grupos de estudio	93

Tabla 15: Evolución de la variable clínica de profundidad de sondaje (PS) a lo largo del tiempo en los tres grupos de estudios.	95
Tabla 16: Evolución de la profundidad de sondaje, a lo largo del tiempo del estudio, en los tres grupos de estudio.....	95
Tabla 17: Evolución del Sangrado al sondaje en la semana de inicio del estudio previo a realizar los tratamientos.	97
Tabla 18: Evolución del Sangrado al sondaje 4 semanas después de realizar los tratamientos en los grupos de estudios.....	98
Tabla 19: Evolución del sangrado al sondaje en la semana 8 después del tratamiento.....	99
Tabla 20: Evolución de la variable clínica de recesión en función de los tratamientos a lo largo del estudio.....	99
Tabla 21: Evolución del nivel de inserción clínica en función de los tratamientos a lo largo del estudio.....	100
Tabla 22: Evolución del nivel se inserción clínica (NIC) a lo largo del tiempo en los tres grupos de estudio.....	101
Tabla 23: Evolución del parámetro de grado de movilidad en los tres grupos de estudios previo a los tratamientos.	103
Tabla 24: Evolución del grado de movilidad en la semana 4 después del tratamiento en función de los tratamientos.	103
Tabla 25: Evolución del grado de movilidad en la semana 8 del estudio comparando los tres tratamientos.....	104

Tabla 26: Evolución del grado de afectación de furca en el comienzo del tratamiento.....	105
Tabla 27: Evolución del grado de afectación de furca en la semana 4 después del tratamiento.	105
Tabla 28: Evolución del grado de afectación de furca en la semana 8 después del tratamiento.	106
Tabla 29: Tabla resumen de resultados estadísticos de las variables clínicas.	107
Tabla 30: Evolución de la carga bacteriana del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> comparando los grupos de estudio previo a los tratamientos.	108
Tabla 31: Evolución de la carga bacteriana del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> a las 4 semanas de los tratamientos.	109
Tabla 32: Evolución de la carga bacteriana del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> a las 8 semanas de los tratamientos en función de los grupos de estudio.....	109
Tabla 33: Carga bacteriana de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> presente al comienzo de los tratamientos.....	110
Tabla 34: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> a las 4 semanas de los tratamientos.	111
Tabla 35: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> a las 8 semanas de los tratamientos.	111
Tabla 36: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Tannerella forsythia (T.f)</i> en la semana del comienzo de los tratamientos.....	112

Tabla 37: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Tannerella forsythia (T.f)</i> en la semana 4 de los tratamientos en los tres grupos de estudio.	113
Tabla 38: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Tannerella Forsythia</i> a las 8 semanas de los tratamientos.....	113
Tabla 39: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Prevotella intermedia</i> antes de los tratamientos.....	114
Tabla 40: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Prevotella intermedia</i> a las 4 semanas de los tratamientos.....	115
Tabla 41: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Prevotella intermedia</i> a las 8 semanas del tratamiento.	115
Tabla 42: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Treponema denticola</i> al comienzo del tratamiento.	117
Tabla 43: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Treponema denticola</i> a las 4 semanas del tratamiento.	117
Tabla 44: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Treponema denticola</i> a las 8 semanas del tratamiento.	118

ÍNDICE DE GRÁFICOS:

Gráfico 1: Gráfico de comparación de la variable clínica de índice de placa en los tres grupos de tratamiento a lo largo del tiempo.	94
Gráfico 2: Representación gráfica mediante barras de error de la PS a lo largo de las 8 semanas para los 3 tratamientos.	96
Gráfico 3: Gráfico donde se explica la evolución del sangrado al sondaje (SS) en las tres etapas del estudio. Siendo NS=no sangrado, S= Ligeramente sangrado, S+C+=sangrado y cálculo donde la sonda periodontal es visible en las bolsas, S+C-= sangrado y cálculo donde la sonda periodontal menos visible en la bolsa y S+C= mucho sangrado y cálculo, no podemos ver la sonda en la bolsa.	97
Gráfico 4: Representación gráfica mediante barras de error en la evolución del nivel inserción clínica (NIC) a lo largo del estudio.	102
Gráfico 5: Gráfica de evolución de la variable de movilidad dental en los tratamientos a lo largo del estudio.	104
Gráfico 6: Gráfico de evolución del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> a lo largo de tiempo.	110
Gráfico 7: Evolución de la carga bacteriana de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> a lo largo del estudio en los grupos de tratamientos.	111
Gráfico 8: Gráfico de evolución de la <i>Tannerella forsythia</i> a lo largo del estudio en los tres grupos.	113

Gráfico 9: Evolución de la carga bacteriana de la *Prevotella intermedia* en los tres tratamientos a lo largo del estudio. 116

Gráfico 10: Evolución de la carga bacteriana de la *Treponema denticola* lo largo del estudio.119

CAPÍTULO IX: RESUMEN Y SUMMARY.

RESUMEN:

La enfermedad periodontal está muy presente a nivel mundial, aunque los grados avanzados afectan a un pequeño porcentaje de la población. Sabemos que para combatir esta enfermedad, el tratamiento o terapia debe ir conducida hacia la eliminación con posterior control de los Biofilms presentes en la placa dental y además debemos combatir y modificar los factores que influyen a nivel personal en cada uno de nuestros pacientes. Y evitar futuras recidivas.

Para controlar estos Biofilms, el tratamiento realizado se basa en el control mecánico de la higiene bucal, esto es, cepillado, hilo o seda dental, higiene interproximal y sistemas de control químico como coadyuvante del control mecánico. Pero además, cuando existe una pérdida del nivel de inserción causado por la enfermedad periodontal, se recurren a tratamientos básicos periodontales. Esto es, el raspado y alisado radicular.

En el tratamiento de la enfermedad periodontal se ha demostrado que las terapias mecánicas y químicas son de gran efectividad clínica en los estudios longitudinales realizados. Pero existen limitaciones. Como por ejemplo, la incapacidad de eliminar de una forma predecible determinados patógenos periodontales. O la capacidad de recolonización de dichos patógenos persistentes en otros nichos orales. Así como las resistencias por el uso sin justificación de los antibióticos. Estas limitaciones exigen buscar alternativas en los tratamientos. Como es la terapia fotodinámica. Así, en este estudio, el *objetivo principal* es evaluar el efecto del tratamiento de la terapia fotodinámica en pacientes con periodontitis crónica generalizada frente al tratamiento

básico de raspado y alisado radicular. Y valorar si existe una mejora de este tratamiento alternativo en los parámetros clínicos y microbiológicos estudiados.

Material:

Para ello, se ha procedido a realizar un estudio piloto con 60 pacientes diagnosticados con enfermedad periodontal moderada/avanzada y se han dividido en tres grupos de tratamientos: raspado y alisado radicular, láser y terapia fotodinámica.

Método:

Se trata de un muestreo consecutivo no probabilístico con asignación no aleatoria a los tratamientos a estudio.

Resultados:

Se ha demostrado una diferencia estadísticamente significativa en la mejora del parámetro de profundidad de sondaje a lo largo del tiempo. En cuanto a la mejora de parámetros microbiológicos se ha producido una mejora estadísticamente significativa en la disminución de la carga bacteriana de la *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Así como en la *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*. Pero no, en la *Prevotella intermedia* y *Treponema denticola*.

Conclusiones:

No se demuestra la superioridad de un tratamiento frente a otro, a la hora de valorar los parámetros clínicos y microbiológicos.

Palabras clave:

Terapia fotodinámica, terapia fotoactiva, láser de diodo, indocianina verde en odontología, azul de metileno.

SUMMARY:

Periodontal disease is a very present worldwide; however, the advanced degrees only affect a small percentage of the population. We know that in order to battle this disease, the treatment or the therapy must be conducted towards the elimination and the posterior control of the biofilms that are present in the dental plaque and we must combat and modify the factors that influence on the personal level in each of our patients. We must also avoid future recurrences.

To control these biofilms, the treatment done is based in the mechanical control of the oral hygiene, this is; brushing, dental floss, interproximal hygiene and chemical control systems as an addition to mechanical control. In addition, when there's loss of the level of insertion caused by periodontal disease, basic periodontal treatments are used. By this, we mean root scaling and root planning.

In the treatment for periodontal disease, it has been demonstrated that mechanical and chemical therapies are of great clinical effectiveness in the longitudinal studies. However there are limitations. For example, the inability to eliminate in a predictable way certain periodontal pathogens or the capacity for recolonization of these persistent pathogens in the other oral niches. As well as resistances for the unjustified

use of antibiotics. These limitations require the study of new alternatives. As is photodynamic therapy. Thus, in this study, the *main objective* is to assess the treatment effect of photodynamic therapy in patients with generalized chronic periodontitis compared to basic periodontal treatment (root scaling and root planning). We will also assess whether there is an improvement of this alternative in the clinical and microbiological parameters studied.

Materials:

To this end, a pilot study was carried out with 60 patients diagnosed with moderate / advanced periodontal disease and divided into three groups of treatments: root scaling and smoothing, laser and photodynamic therapy.

Method:

This is a non-probabilistic consecutive sampling with non-random assignment to the treatments cited above.

Results:

A statistically significant difference has been demonstrated in the improvement of the probing depth parameter over time. As for improving the microbiological parameters it also produced statistically significant improvement in reducing the bacterial load of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia*. Not in, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*.

Conclusions:

The superiority of one treatment against the other, when assessing clinical and microbiological parameters, is not demonstrated.

Key words:

Photodynamic therapy, photoactive therapy, Diode laser, indocyanine green in dentistry, Methylene Blue.

CAPÍTULO X: BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFÍA:

¹ Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clinical Microbiol Rev.* 2001; (14):727-52.

² Escudero- Castaño, N; Perea-García, M.A; García-García, V; Bascones-Martínez, Una terapia innovadora en el tratamiento de la enfermedad periodontal. la terapia fotoactiva. *Cient Dent* 2009; 6; (1):9-19.

³ Bascones- Martínez A F-RE. Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. *Av Periodon Implantol.* 2005; 17(3). 147-56.

⁴ Preshow PM, Seymour RA, Heasman PA. Current concepts in periodontal pathogenesis. *Dent Update.* 2004; 31:570-2, 574-8.

⁵ Guilarte, C. patógenos periodontales. *Acta Odont Ven* 2001; 39 (3): 91-3.

⁶ Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999 Dec; 4(1):1-6.

⁷ Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology. *J Can Dent Assoc* 2000; 66 (11):594-97.

⁸ Huck O, Tenenbaum H, Davideau J-L. Relationship between Periodontal Diseases and Preterm Birth: Recent Epidemiological and Biological Data. *J Pregnancy* 2011; (2011) 1-8.

⁹ Escudero- Castaño N, Perea –García MA, Bascones-Martínez A. Revisión de la periodontitis crónica. Evolución y su aplicación clínica. *Av Periodon Implantol.* 2008; 20, 1:27-37.

¹⁰ Kinane D., Berglundh, T., Lindhe, J. interacción entre el huésped y el parásito en la enfermedad periodontal. *Periodontología Clínica e Implantología odontológica.* España. Editorial Médica Panamericana, 2009; 285-305.

¹¹ Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals of Periodontology*. 1996 Nov; 1 (1): 821-78.

¹² Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basics of periodontitis. *Periodontology* 2000. 2005; 39:91-117.

¹³ Kinane D., Berglundh, T., Lindhe, J., Pathogenesis. En Lang, N.P., Lindhe J., *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, Oxford, Willey Blackwell, 20158, 285-306

¹⁴ Page, R., Schoereder, H., Pathogenesis of Inflammatory Periodontal Disease. A Summary of Current Work, en *Laboratory Investigations*, 1975, (34):235-249.

¹⁵ Costerton JW. Introduction to Biofilm. *Int J Antimicrob Agents*. 1999 May; 11(3-4):217-21; discussion 37-9.

¹⁶ Egelberg J. Local Effect of Diet on Plaque Formation and Development of Gingivitis in Dogs. I. Effect of Hart and Soft Diets. *Odontol Rev*. 1965; 16:31-41.

¹⁷ S. L.JN. *Periodontología Clínica e Implantología*. 4º ed. Buenos Aires: Panamericana; 2005.

¹⁸ Socransky SS, Haffajee ad, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb; 25(2):134-44.

¹⁹ Ebersole JL, Taubman MA. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontology* 2000. 1994 Jun; 5:112-41.

²⁰ Trombelli L, Farina R, Manfrini R, Tatakis dn. Modulation of clinical expression of plaque- induced gingivitis: effect of incisor crow form. *Journal of dental research*. 2004 Sep; 83(9): 728-31.

²¹ Van der Velden U, Abbas F, Armand S, de Graaff J, Timmerman MF, Van der Weijden GA, et al. The effect of sibling relationship on the periodontal condition. *Journal of clinical Periodontology*. 1993 Oct; 20(9):683-90.

²² Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *Journal of Periodontology*. 1996 Nov; 1(1):821-78.

²³ Al-Ghamdi HS, Anil S. Serum antibody levels in smoker and non-smoker Saudi subjects with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2007 Jun; 78(6):1043-50.

²⁴ Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *Journal of clinical Periodontology*. 2001 May; 28(5):377-88.

²⁵ Genco RJ, Loe H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 1993 Jun; 2:98-116.

²⁶ Oliver RC, Tervonen T. Periodontitis and tooth loss: comparing diabetics with the general population. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 1993 Dec; 124(12):71-6.

²⁷ Hugoson A, Ljungquist B, Breivik T. The relationship of some negative events and psychological factors to periodontal disease in an adult Swedish population 50 to 80 years of age. *Journal of clinical Periodontology*. 2002 Mar; 29(3):247-53.

²⁸ Heckmann SM, Linke JJ, Graef F, Foitzik C, Wichmann MG, Weber HP. Stress and inflammation as a detrimental combination for peri-implant bone loss. *Journal of dental research*. 2006 Aug; 85(8):711-6.

²⁹ Greenwell H. Guideline for periodontal Therapy. *J Periodontol* 2001; 72:1624-8.

³⁰ Rosling B, Lindhe J. The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. *Journal of clinical Periodontology*. 1976 Feb; 3(1):38-53.

³¹ Lindhe J, Nyman S. The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *Journal of clinical Periodontology*. 1975. Apr; 2(2):67-79.

³² Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions. *Pediatric dentistry*. 2005-, 27(7 reference manual):202-11.

³³ Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *Journal of Periodontology*. 1993 Apr; 64(4):242-53.

³⁴ Wilson M. Lethal photosensitization of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. *Photochem Photobiol Sci*. 2004 May; 3(5):412-8.

³⁵ Hayek RR, Araujo NS, Gioso MA, Ferreira J, Baptista- Sobrihno CA, Yamada AM, et al. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature- induced peri-implantitis in dogs. *Journal of Periodontology*. 2005 Aug; 76(8):1275-81.

³⁶ Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compares to scaling and root planning. *J Clin Dent*. 2007 Mar; 78(3):566-75.

³⁷ De Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, García VG. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*. 2007 Mar; 78(3):566-75.

³⁸ Komerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram negative bacteria. *Photochemistry and photobiology*. 2000 Nov; 72(5):676-80.

³⁹ Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. *J Clin Dent*. 2007; 18(2):34-8.

⁴⁰ Claffey N, Polyzois I, Ziaka P. An overview of nonsurgical and surgical therapy. *Periodontol*. 2000. 2004; 36: 35–44.

⁴¹ Lee JM, Kim JH, Kwon EY, Kim YK, Lee JY, Kim SJ et al. Comparative study on the results of non-surgical periodontal treatment according to the location of the affected

site. *J Periodontal Implant Sci.* 2011; 41(2): 92–7.

⁴² American Academy of Periodontology--Research, Science, and Therapy Committee. Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions. *Pediatric dentistry.* 2005; 27: 202-11.

⁴³ Badersten A, Niveus R, Egelberg J. 4-year observations of basic periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1987; 14(8): 438–44.

⁴⁴ Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1978; 5(2): 133–51.

⁴⁵ Rosling B, Nyman S, Lindhe J. The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. *J Clin Periodontol* 1976; 3(1): 38–53.

⁴⁶ Lindhe J, Nyman S. The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *J Clin Periodontol* 1975; 2(2): 67–79.

⁴⁷ Becker W, Becker BE, Caffesse R, Kerry G, Ochsenbein C, Morrison E, et al. A longitudinal study comparing scaling, osseous surgery, and modified Widman procedures: results after 5 years. *J Periodontol* 2001; 72(12): 1675–84.

⁴⁸ Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP, Dyer JK. Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *J Periodontol* 1996; 67(2): 93–102.

⁴⁹ Fabrizi S, Barbieri Petrelli G, Vignoletti F, Bascones Martínez A. Tratamiento quirúrgico vs terapia periodontal básica: estudios longitudinales en Periodoncia clínica. *Av Periodon Implantol* 2007; 19 (2): 161-175.

⁵⁰ Fleischer HC, Mellonig JT, Brayer WK, Gray JL, Barnett JD. Scaling and root planing

efficacy in multirrooted teeth. *J Periodontol* 1989; 60(7): 402–9.

⁵¹ Matia JI, Bissada NF, Maybury JE, Ricchetti P. Efficiency of scaling of the molar furcation area with and without surgical access. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1986; 6(6): 24–35.

⁵² Hayakawa H, Ota K, Ida A, Fujinami K, Furusawa M, Makiishi T, et al. Surgical periodontal therapy at Tokyo Dental College Suidobashi Hospital: a statistical profile in 2010-2011. *Bull Tokyo Dent Coll* 2011; 52(4): 223–8.

⁵³ Kerry GJ, Morrison EC, Ramfjord SP, Hill RW, Caffesse RG, Nissle RR, et al. Effect of periodontal treatment on tooth mobility. *J Periodontol* 1982; 53(10):635–8.

⁵⁴ Bascones A, Morante S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodon Implantol* 2006; 18 (1):31-59.

⁵⁵ Kshitish D, Laxman VK. The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: a clinical and microbiologic study. *Indian J Dent Res* 2010; 21(3): 341–8.

⁵⁶ Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1998; 36(3):177–87.

⁵⁷ Bascones A, Manso F. Clorhexidina en odontoestomatología: conceptos actuales y revisión de la literatura. *Avances en Odontoestomatología*. 1991; 10: 685-708.

⁵⁸ Stadler S, Fleck T. Triclosan-coated sutures for the reduction of sternal wound infections? A retrospective observational analysis. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011; 13(3): 296–9.

⁵⁹ Komerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gramnegative bacteria. *Photochemistry and photobiology*. 2000; 72(5):676-80.

⁶⁰ Robert A. Convissar. *Laser en odontología. Principios y práctica*. Editorial Elsevier Mosby. 2012.

⁶¹ Ruiz Magaz V, Pascual la Rocca, A, Santos Alemany A. Aplicaciones del láser en Periodoncia. *Periodoncia y Osteointegración*. 2007 julio-septiembre. 17(3); 111: 147-158.

⁶² Cobb CM. Lasers in Periodontics: A review of the literature. *J. Periodontol* 2006; 77:545-64.

⁶³ Kreisler M, Meyer C, Stender E, DaublÄnder M, Wilershausen- ZÖnnchen B, d’Hoedt B. Effect of diode laser irradiation on the attachment rate of periodontal ligament cells: an in vitro study. *J Periodontol* 2001; 72:1312-7.

⁶⁴ Dorronsoro Mendiguren M. La tecnología láser. 12 Fundamentos. Aplicaciones y tendencias. 1996. 1ª edición. Editorial Eve.

⁶⁵ Tipler PA, Mosca GP. Física para la ciencia y la tecnología. Volumen 1 y 2. 2004. 5ª edición. Editorial Reverte.

⁶⁶ Aoki A, Miyuki S, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology* 2000; 36(204):59-97.

⁶⁷ Sahm N, Schwarz F, Becker J, Aoki A. Uso de la terapia fotodinámica antimicrobiana en el tratamiento periodontal y periimplantario. *Periodoncia y Osteointegración*. 2011; 21(2):105-15.

⁶⁸ Segarra M, López Roldán A, Puchades J, Gil F, Marco R, Alpiste F. Revisión sistemática de la terapia fotodinámica en el tratamiento de la periodontitis crónica. *Revista Maxillaris*. 2012. 131-141.

⁶⁹ Surco Kuna V, Cachaga Villegas F. Uso del láser diodo en el tratamiento de enfermedades periodontales. *Revista de Actualización clínica*. 2013. 31:1591-96.

⁷⁰ A, Aoki A, Watanabe H, Ishikama I. Bactericidal effect of erbium YAG laser on periodontopathic bacteria. *Lasers surg Med*. 1996; 19: 190-200.

⁷¹ Cob CM, McCawley TK, Killow WJ. A preliminary study on the effects of the Nd: YAG laser on root surfaces and subgingival microflora in vivo. *J. Periodontology*. 1992; 63: 701-707.

⁷² Moritz A, Gutknecht N, Doertbudak O y cols. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: a pilot study. *J Clin Laser Medical Surgical*. 1997; 15: 33-37.

⁷³ Maisch T, Szeimies RM, Jori G, Abels C. Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochem Photobiol Sci*. 2004; 3: 907-917.

⁷⁴ Meisel p, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: State of art. *J Photochem Photobiology B*. 2005; 79: 159-170.

⁷⁵ Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J. Antimicrob Chemother*. 1998; 42:13-28.

⁷⁶ Maisch T. Antimicrobial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers Med Sci*. 2007; 22:83-91.

⁷⁷ Sharman WM, Allen CM, Van Lier JE. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discov Today*. 1999; 4:504-517.

⁷⁸ Bertoloni G, Lauro FM, Cortella G, Merchat M. Photosensitizing activity of hematoporphyrin on staphylococcus aureus cells. *Biochim Biophys Acta*. 2000; Vol 1475:169-174.

⁷⁹ Schafer M, Schmitz C, Horneck G. High sensitivity of *Deinococcus radiodurans* to photodynamically-produced singlet oxygen. *Int. Journal Radiat Biol*. 1998; 74:249-253.

⁸⁰ Foote CS. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem Photobiol*. 1991; 54:659.

⁸¹ Moan J, Berg K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochem Photobiol*. 1991, 53: 549-553.

⁸² Peng Q, Moan J, Nesland JM. Correlation of subcellular and intratumoral photosensitizer localization with ultra-structural features after photodynamic therapy. *Ultrastruct Pathol.* 1996; 20:109-129.

⁸³ Komerik N, Nakanishi H, Mac Robert AJ, Henderson B, Seight P, Wilson M. In vivo killing of porphyromonas Gingivalis by toulidine blue- mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47:932-940.

⁸⁴ Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 1993; 28:204–210.

⁸⁵ Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low power laser. *Oral Microbiol Immunol.* 1993; 8: 182-187.

⁸⁶ Rovaldi CR, Pievsky A, Sole NA, Friden PM, Rothstein DM, Spacciapoli P. Photoactive porphyrins derivative with broad-spectrum activity against oral pathogens in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3364-3367.

⁸⁷ Ower PC, Ciantar M, Newman HN, Wilson M, Bulman JS. The effects on chronic periodontitis of a subgingivally -placed redox agent in a slow release device. *J Clin Periodontol.* 1995 Jun; 22(6):494-500.

⁸⁸ Gibson Mt, Mangat D, Gagliano G, Wilson M, Fletcher J, Bulman J, et al. Evaluation of the efficacy of a redox agent in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1994 Nov; 21(10):690-700.

⁸⁹ Wilson M, Strahan D, Harvey w. A preliminary evaluation of the use of a redox agent in the treatment of chronic periodontitis. *J. Periodontal Res.* 1992 Sep; 27(5):522-7.

⁹⁰ Wilson M., Dobson J., Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low- power laser radiation. *Current Microbiology.* 1992; 25: 77 -81.

⁹¹ Wilson M, Burns T, Prattens J, Pearson GJ. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low- power laser light in the presence of a photosensitizer- *J. Appl Bacteriol.* 1995; 78: 569-574.

⁹² Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas Gingivalis* in vitro. *Photochem Photobiol.* 1997; 65: 1026-1031.

⁹³ Matevski D, Weersink R, Tenenbaum HC, Wilson B, Ellen RP, Lepine G. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. *J. Periodont Res.* 2003; 38: 428-435.

⁹⁴ Soukos NS, Ximenez LA, Hamblin MR, Socransky SS, Hasan T. Targeted antimicrobial photochemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 2595-2601.

⁹⁵ Soukos NS, Mulholland SE, Socransky SS, Doukas AG. Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photomechanical waves in an oral Biofilm model. *Laser Sur Med.* 2003; 33: 161-168.

⁹⁶ Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci.* 2004 May; 3(5):436-50.

⁹⁷ Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev.* 1992 Sep; 56(3):395-411.

⁹⁸ Raghavendra M, Koregol A, Bhola S. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. *Aust Dent J.* 2009 Sep; 54 Suppl 1:S102-9.

⁹⁹ Soukos NS, Ximenez – Fyvie LA, Hamblin MR, Socransky ss, Hasan, T. Targeted antimicrobial photochemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998 Oct; 42(10):2595-601.

¹⁰⁰ Betsy J, Prasanth CS, Baiju KV, Prasanthila J, Subhash N. efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *J.Clin Periodontol.* 2014 Jun; 41 (6):573-81

¹⁰¹ Braun A, Dehn c, Krause F, Jepsen S. Short- term clinical effects of adjunctive anti-microbial photodynamic therapy in periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* 2008 Oct; 35(10):877-84.

¹⁰² Campos GN, Pimentel SP, Ribeiro FV, Casarin RC, Cirano FR, Saraceni CH, et al. The adjunctive Effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: A randomized controlled clinical trial. *Lasers Medical Science.* 2013 Jan; 28(1):317-24.

¹⁰³ Franco EJ, Pogue RE, Sakamoto LH, Cavalcante LL, Carvalho DR, De Andrade RV. Increased expression of genes after periodontal treatment with photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodynamic Therapy.* 2014 Mar; 11(1):41-47.

¹⁰⁴ Yilmaz S, Kuru L, Noyan U, Argun D, Kadir T. Effect of gallium arsenide diode laser on human periodontal disease: a microbiological and clinical study. *Lasers Surgical Medicine.* 2002; 30(1):60-6.

¹⁰⁵ Alwaeli HA, AL-Khateed SN, Al-Sadi. Long- term clinical Effect of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *Laser medical Science.* 2013 Sept 15; 22(2):416-22.

¹⁰⁶ Theodoro KH, Silva SP, Pires JR, Soares GH, Pontes AE, Zuza EP, et al. Clinical and microbiological effects of photodynamic therapy associated with non surgical periodontal treatment. A 6 month follow-up. *Lasers Med Science.* 2012 Jul; 27(4):687-93.

¹⁰⁷ Carvalho VF, Andrade PV, Rodrigues MF, Hirata MH, Hirata RD, Pannuti CM, et al. Antimicrobial photodynamic effect to treat residual pockets in periodontal patients: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodon.* 2015 May; 42(5):440-7.

¹⁰⁸ Christodoulides N, Nikolidakis D, Chondros P, Becker J, Schwarz F, Rössler R, et al. Photodynamic therapy as an adjunct to non surgical periodontal treatment. A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2008 Sep; 79(9):1638-44.

¹⁰⁹ Gómez C, Domínguez A, García- Kass AL, García-Núñez JA. Aplicación complementaria de terapia fotodinámica y de la radiación laser de ER: YAG al tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica: Estudio comparativo de sus efectos clínicos, antiinflamatorios y antimicrobianos. *Avances Odontoestomatológicos*. 2011; 27(3):147-60.

¹¹⁰ Dilsiz A, Canakci V, Aydin T. Clinical effects of potassium-titanyl- phosphate laser and photodynamic therapy on outcomes of treatment of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J. Periodontology*. 2013 Mar; 84(3):278-86.

¹¹¹ Pourabbas R, Kashefimehr A, Rahmanpour N, Babaloo Z, Kishen A, Tenenbaum HC, et al. Effects of photodynamic therapy on the clinical and gingival Crevicular fluid inflammatory biomarkers in chronic periodontitis: a split- mouth randomized clinical trial. *J. Periodontol*. 2014 Sep; 85(9):1222-9.

¹¹² Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M, Treatment of periodontal disease by Photodisinfection compared to scaling and root planing. *J Clin Dent*. 2007; 18(2):34-8.

¹¹³ Sigush Bw, Engelbrecht M, Völpel A, Holletschke A, Pfister W, Schütze J. Full-mouth antimicrobial photodynamic therapy in *Fusobacterium Nucleatum* –infected periodontitis patients. *J. Periodontol*. 2010 Jul; 81(7):975-81.

¹¹⁴ Berakdar M, Callaway A, Eddin MF, Ross A. Comparison between scaling- root- planning (SRP) and SRP/photodynamic therapy: six months study. *Head Face Med*. 2012 Apr 5; 8:12.

¹¹⁵ Armitage GC, Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999 Dec; 4(1):1-6.

¹¹⁶ Plancak D, Jordic-Srdjak K. Curilovic Z. New classification of periodontal diseases. *Acta stomatologica Croat*. 2001; 35(1): 89-93.

¹¹⁷ Bascones- Martínez A F-RE. Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. Avances en Periodoncia. 2005; 17(3):147-56.

¹¹⁸ Flemming TF. Periodontitis. Anals of Periodontology/ the American Academy of Periodontology. 1999 Dec; 4(1):32-8.

¹¹⁹ Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol. 1999 Dec; 4(1):1-6.

¹²⁰ Bascones- Martínez A. tratamiento periodontal quirúrgico. Revisión. Conceptos. Consideraciones. Procedimientos. Técnicas. Avances en Periodoncia. 2011 Dec; 23(3): 155-170.

¹²¹ Lang NP, Hill RW, radiographs in Periodontics. J Clin Periodontol. 1977 Feb; 4(1):16-28.

¹²² Löe H, Sinless J. Periodontal disease in Pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odontol Scand. 1963 Dec; 21: 533-51.

¹²³ Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding- a leading symptom in initial gingivitis. Helv Odontol Acta. 1971 Oct; 15(2), 107-13.

¹²⁴ Miller SC. textbook of periodóntica. 3rd ed. Philadelphia: The Blackstone Co Editors; 1950.

¹²⁵ Hamp SE, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years. J Clin Periodontol. 1975 Aug; 2(3):126-35.

¹²⁶ Noro Filho GA, Casarin RC, Casati MZ, Giovani EM. PDT in non- surgical treatment of periodontitis in HIV patients: a split-mouth, randomized clinical trial. Lasers Surg Med.

2012 Apr; 44(4):296-302.

¹²⁷ Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976 Mar; 34(3):235-49.

¹²⁸ Donate Castro E, Frías López MC, Balda García I, Carasol Campillo M. Pruebas de ADN en Periodoncia. Presente y futuro. *Prof. Dental.* 2004 Dec; 1(3):119-122.

¹²⁹ Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Hard Symp Quant Biol.* 1986; 51(1):263-73.

¹³⁰ Mullis K, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987; 155:335-50.

¹³¹ Ruano G, Kidd KK. Modeling of heteroduplex formation during PCR from mixtures of DNA templates. *PCR Methods Appl.* 1992 Nov; 2(2):112-16.

¹³² Zipper H, Brunner H, Bernhagen J, Vitzthum F. Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Res.* 2004 Jul 12; 32(12):e103.

¹³³ Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the 2^{-Delta-Delta} c. Method. *Methods.* 2001Dec; 25(4):402-8.

¹³⁴ Marshall- Day CD, Stephens RG, Quigley LF. Periodontal disease: prevalence and incidence. *J Periodontol.* 1955; 26:185-203.

¹³⁶ Kinane DF, Chestnutt IG. Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000; 11(3):356-65.

¹³⁷ Scherp HW. Current concepts in periodontal disease research: epidemiological con-

tributions. J Am Dent Assoc. 1964 May; 68:667-75.

¹³⁸ Fauchard P. Chap. XI. En: Pierre Jean Mariette, editors. Le chirurgien dentiste, V1, ou traite des dents. Paris: Kessinger Publishing; 1746, p. 177-82.

¹³⁹ Lindhe J, Hamp SE, Löe H. Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4 years clinical, roengenographical and histometrical study. J Periodontol Res. 1975 Nov; 10(5):243-55.

¹⁴⁰ Knowles JW, Burgett FG, Nissle RR, Shick RA, Morrison EC, Ramfjord SP. Results of periodontal treatment related to pocket depth and attachment level. Eight years. J Periodontol. 1979 May; 50(5):225-33.

¹⁴¹ Surco-Luna VJ, Cachaga-Villegas FE. Uso del láser diodo en el tratamiento de enfermedades periodontales. Rev. Act. Clin. Med. 2013; 31:1591-6.

¹⁴¹ Giuliani F, Martinelli M, Cocchi A, Arbia D, Fantetti L, Roncucci G. In vitro resistance selection studies of RLP068/Cl, a new Zn(II) phthalocyanine suitable for antimicrobial photodynamic therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Feb; 54(2):637-42.

¹⁴² Calderín S, García-Núñez JA, Gómez C. Short-term clinical and osteoimmunological effects of scaling and root planing complemented by simple or repeated laser phototherapy in chronic periodontitis. Lasers Med Sci. 2013 Jan; 28(1):157-66.

¹⁴³ De Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB, Garlet GP, de Souza RF, Taba M. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results. J Periodontol. 2009 Jan; 80(1):98-105.

¹⁴⁴ Kömerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. Photochem Photobiol. 2000 Nov; 72(5):676-80.

¹⁴⁵ Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2003; 30 Suppl 5:S7-9.

¹⁴⁶ Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol.* 2001 Jul; 28(7):597-609.

¹⁴⁷ Harper DS, Robinson PJ. Correlation of histometric, microbial, and clinical indicators of periodontal disease status before and after root planing. *J Clin Periodontol.* 1987 Apr; 14(4):190-6.

¹⁴⁸ Ryan ME. Nonsurgical approaches for the treatment of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005 Jul; 49(3):611-36, vii.

¹⁴⁹ De Paula Eduardo C, de Freitas PM, Esteves-Oliveira M, Aranha AC, Ramalho KM, Simões A, et al. Laser phototherapy in the treatment of periodontal disease. A review. *Lasers Med Sci.* 2010 Nov; 25(6):781-92.

¹⁵⁰ Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RA. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser Surg.* 2006 Apr; 24(2):158-68.

¹⁵¹ Qin YL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodontol Res.* 2008 Apr; 43(2):162-7.

¹⁵² Sigusch BW, Pfitzner A, Albrecht V, Glockman E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *J Periodontol.* 2005 Jul; 76(7):1100-5.

¹⁵³ Hopp M, Reiner B. Photodynamic therapies. Blue versus green. *Laser.* 2013_1; 10-

25.

¹⁵⁴ Shapira L, Wilensky A, Kinane DF. Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 Suppl 6:72-86.

¹⁵⁵ Lang NP, Nyman S, Senn C, Joss A. Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *J Clin Periodontol*. 1991 Apr; 18(4):257-61.

¹⁵⁶ Van der Weijden GA, Timmermann MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002; 29 Suppl 3:55-71.

¹⁵⁷ Botero L, Botero A, Bedoya JS, Guzmán IC. Terapia periodontal no quirúrgica. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*. 2012 Jul; 23(2):334-42.

¹⁵⁸ Ewen SJ, Scopp IW, Witkin RT, Ortiz-Junceda M. A comparative study of ultrasonic generators and hand instruments. *J. Periodontol*. 1976 Feb; 47 (2):82-6.

¹⁵⁹ Christgau M, Männer T, Beuer S, Hiller KA, Schmalz G. Periodontal healing after non-surgical therapy with a modified sonic scaler: a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2006 Oct; 33(10):749-58.

¹⁶⁰ Braun A., Dehn C., Krause F., Jepsen S. Short clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 2008; 35:877–884.

¹⁶¹ Polansky R., Haas M., Heschl A., Wimmer G. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2009; 36: 575–580.

¹⁶² Chondros P., Nikolidakis D., Christodoulides N., Rössler R., Gutknecht N., Sculean A.

Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers in Medical Science*, 2009; 24:681–688.

¹⁶³ Ramos de Oliveira R., Schwartz-Filho H.O., Novaes Jr. A.B., Pompermaier Garlet G., Freitas de Souza R., Taba Jr. M., Scombati de Souza S.L. & Jeter F. Antimicrobial Photodynamic Therapy in the Non-Surgical Treatment of Aggressive Periodontitis: Cytokine Profile in Gingival Crevicular Fluid, Preliminary Results. *Journal of Periodontology*, 2009; 80: 98-105.

¹⁶⁴ Lulic M., Leiggenger Görög I., Salvi G.E., Ramseier C.A., Mattheos N., Lang N.P. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 2009; 36: 661–666.

¹⁶⁵ Ge L., Shu R., Li Y., Li Ch., Luo L., Song Z., Xie Y., Liu D. Adjunctive effect of Photodynamic Therapy to Scaling and Root planning in the treatment of Chronic periodontitis. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2011; 29: 33-37.

¹⁶⁶ Schwarz F, Aoki A, Becker J, Sculean A. Laser application in non- surgical periodontal therapy: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep; 35 (8 Suppl):29-44.

¹⁶⁷ Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci*. 2003; 18(1):51–5.

¹⁶⁸ Kömerick N, Nakanish H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue- mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Mar; 47(3):932–40.

¹⁶⁹ Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanism of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998 Dec; 62(4):1244-63.

¹⁷⁰ Noro Filha GA, Casarin RC, Casati MZ, Giovani EM. PDT in non- surgical treatment of periodontitis in HIV patients: a split-mouth, randomized clinical trial. *Lasers Surg Med.* 2012 Apr; 44(4):296-302.

¹⁷¹ Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D. The intra- oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 2001 Jun; 28(6):499-507.

¹⁷² Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998 Feb; 25(2):134- 44.

¹⁷³ Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. *Lasers Surg Med.* 2001; 29(2):165-73.

¹⁷⁴ Hopp M, Reiner B. Photodynamic therapies. Blue versus green. *Laser.* 2013_1; 10-25.