



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA CONSERVADORA  
ÁREA DE PERIODONCIA  
LABORATORIO DE BIOLOGÍA PERIODONTAL**

**EFFECTO CLÍNICO E INMUNOLÓGICO DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL MÁS  
ADMINISTRACIÓN ORAL DE PROBIÓTICO EN PERIODONTITIS CRÓNICA:  
RESULTADOS PRELIMINARES.**

**Miguel Antonio Albornoz Guerrero**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Jorge Gamonal Aravena.**

**TUTOR ASOCIADO**

**Dra. Alicia Morales Chvets**

**Adscrito a Proyecto de investigación FONDECYT 1130570  
Santiago – Chile  
2015**





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA CONSERVADORA  
ÁREA DE PERIODONCIA  
LABORATORIO DE BIOLOGÍA PERIODONTAL**

**EFFECTO CLÍNICO E INMUNOLÓGICO DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL MÁS  
ADMINISTRACIÓN ORAL DE PROBIÓTICO EN PERIODONTITIS CRÓNICA:  
RESULTADOS PRELIMINARES.**

**Miguel Antonio Albornoz Guerrero**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Jorge Gamonal Aravena.**

**TUTOR ASOCIADO**

**Dra. Alicia Morales Chvets**

**Adscrito a Proyecto de investigación FONDECYT 1130570  
Santiago – Chile  
2015**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar agradezco a Dios por estar siempre en mi vida y por sostenerme en los momentos difíciles que he pasado, pero por sobre todo por ser mi motor y mi razón de cada cosa que hago.

A mi amada esposa, por ser la gran bendición de mi vida. Gracias por soportarme, por animarme, por aconsejarme y por estar conmigo en las buenas y en las malas, es un privilegio tenerte en mi vida y no sería lo mismo finalizar esta etapa sin Ti... Te Amo.

A mis padres y hermanos por su amor incondicional hacia mí, por todos los esfuerzos que han realizado por siempre mantenernos unidos, por sus consejos, porque sé que siempre tendré una palabra de aliento de parte de ustedes, porque siendo yo el menor siempre han estado allí para mí y porque sé que han sacrificado mucho para que yo salga adelante en cada uno de los desafíos que he enfrentado.

Al Prof. Dr. Gamonal, por entender las dificultades por las que pasé y por jugársela para que yo pueda terminar este importante paso y a Alicia Morales por su paciencia y buena disposición para llevar a cabo este trabajo de investigación.

A mis amigos de la vida y de Recetando Sonrisas, porque siempre han estado pendientes de mí en mis estudios y han estado para festejar los éxitos y han estado para alentarme cuando las cosas han estado difíciles.

## ÍNDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
<b>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>18</b>
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>23</b>
<b>6. DISCUSIÓN</b>	<b>31</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>38</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>39</b>
<b>9. ANEXOS</b>	<b>47</b>

## 1. RESUMEN

### Introducción

La periodontitis es una enfermedad de etiología infecciosa y de naturaleza inflamatoria que afecta los tejidos de inserción del diente, la cual para desarrollarse necesita de patógenos periodontales específicos, además de un hospedero susceptible y el accionar de la respuesta inmunológica. El tratamiento periodontal convencional no quirúrgico de pulido y alisado radicular es la terapia de primera línea para el tratamiento de la periodontitis y comúnmente es usada con una terapia antibiótica adjunta, la cual tiene baja especificidad, no logra mejoras a largo plazo y puede presentar resistencia a los mismos en el tiempo. Por esta razón existe un interés en los enfoques que inhiben selectivamente a los patógenos periodontales o modulan la composición microbiana de la placa para el control de la patogénesis microbiana. Entre ellos los probióticos, microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios al hospedero. Los probióticos han demostrado efectividad a través de parámetros microbiológicos, clínicos e inmunes en la periodontitis, y de esta forma ofrecen un nuevo acercamiento preventivo y terapéutico para el control de la enfermedad periodontal.

### Objetivos

Determinar los efectos clínicos e inmunológicos en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no quirúrgica con y sin probiótico oral.

### Materiales y métodos

Se realizó un ensayo clínico de diseño paralelo, aleatorizado, enmascarado y con control mediante placebo para determinar el efecto producido por el probiótico *Lactobacillus rhamnosus SP1*, dispensado en polvo de disolución oral, en conjunto con el tratamiento de pulido y alisado radicular (PAR). La muestra fue de 16 pacientes los que fueron divididos en 2 grupos, el primer grupo (probiótico) estuvo compuesto por 8 pacientes a los que se le realizó el tratamiento de PAR y consumieron el probiótico 1 vez por día por los 3 meses de estudio, el segundo grupo (control) estuvo compuesto por 8 pacientes a los que se les realizó el tratamiento de PAR y consumieron un placebo con el mismo régimen descrito para el grupo probiótico. Al inicio y al final del tiempo de estudio fueron medidos los

parámetros clínicos y fueron recopiladas muestras de fluido crevicular gingival para determinar los parámetros inmunológicos mediante ELISA, los cuales fueron comparados intragrupo durante el tiempo de estudio y comparados intergrupos al inicio y al final del estudio.

### **Resultados**

Al finalizar la intervención, en el grupo probiótico se observó una disminución significativa en la profundidad al sondaje, índice de sangrado e índice de placa, y un aumento significativo en la recesión gingival, respecto a lo obtenido al comienzo del estudio, no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos al finalizar la intervención. Respecto a los parámetros inmunológicos, fue reportado un aumento significativo de los niveles de Interleuquina 8 en el grupo probiótico y control, al comparar los niveles al inicio y al final del estudio. Y al observar las mediciones de los niveles de interleuquina 17 se puede observar una diferencia significativa entre los grupos probiótico y control al finalizar el estudio.

### **Conclusiones**

En conclusión, el presente estudio clínico sugiere que el tratamiento periodontal convencional de pulido y alisado radicular en combinación con la administración oral de la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus SP1*, genera mejorías estadísticamente significativas en los parámetros inmunológicos de pacientes con periodontitis crónica, al ser comparados con un placebo.

## 2. MARCO TEÓRICO

La periodontitis es una enfermedad compleja de etiología infecciosa y de naturaleza inflamatoria que afecta los tejidos de inserción del diente, la cual para desarrollarse necesita de patógenos periodontales específicos además de un hospedero susceptible (Socransky y Haffajee, 1992; Socransky y cols., 1998).

Los periodontopatógenos son los agentes etiológicos de la enfermedad periodontal, y corresponden a especies bacterianas predominantemente Gram negativas anaerobias como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter. Actinomycescomitans*. Sin embargo, un importante determinante de la progresión y desarrollo de la enfermedad es la respuesta inmune del hospedero (Nakajima y cols, 2005; Dutzan y cols, 2011), esto dado que la respuesta inflamatoria influye en el carácter destructivo de la enfermedad (Ito y cols, 2005).

### Respuesta inmunitaria en los tejidos periodontales

La respuesta inmune es una respuesta global, combinada, que involucra una serie de mecanismos altamente especializados que los organismos desarrollan para protegerse de las infecciones causadas por patógenos (Azuma M, 2006). La defensa contra los microorganismos tiene lugar a través de las primeras reacciones correspondientes a la inmunidad innata y las posteriores a cargo de la inmunidad adquirida.

### Respuesta inmune innata

La inmunidad innata aporta la primera línea de defensa frente a los microorganismos. Está constituida por mecanismos de defensa celulares y bioquímicos mediados por péptidos antimicrobianos.

Los principales componentes de la inmunidad innata son: 1) barreras físicas y químicas, como los epitelios y las sustancias antimicrobianas formadas en sus superficies; 2) Células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos, NK); 3) Proteínas sanguíneas, como los factores del sistema del complemento y otros mediadores



de la inflamación; y 4) Citoquinas, que regulan y coordinan gran parte de las actividades celulares de este sistema (Abbas A y cols, 2008).

Las defensinas humanas son péptidos antimicrobianos, pertenecientes al mecanismo de inmunidad innata, tienen un amplio espectro de acción contra bacterias Gram positivas y negativas, como también contra hongos y virus, y su principal mecanismo de acción antibacteriana es mediante la permeabilización de la membrana celular bacteriana, lo cual provoca en las bacterias la inhibición de la síntesis de RNA, DNA y proteínas (Ganz, 2003). La carga positiva que poseen interacciona con la membrana celular bacteriana que posee una fuerte carga negativa entregada por sus componentes, como el LPS en bacterias Gram negativas, polisacáridos en bacterias Gram positivas y los fosfolípidos propios de la membrana en el caso de ambas (Gomes y Fernandes, 2010)

Las defensinas pueden ser divididas en alfa y beta defensinas, Las alfa defensinas son expresadas por neutrófilos humanos y células Paneth (células especializadas de la mucosa intestinal) Los neutrófilos producen alfa defensinas 1 a 4 (hPN-1 a hPN-4), mientras que la 5 y 6 (hD-5 y hD-6) son producidas por las células intestinales (Wu y Cols, 2004),

Las beta defensinas 1, 2 y 3 (hBD1, 2 y 3), son producidas por las células epiteliales y han sido detectadas en glándulas salivales, encía, lengua y mucosa bucal (Harder y Cols, 2001). La hBD-1 es expresada constitutivamente (Sahasrabudhe y Cols, 2000) y las hBD-2 y 3 son generalmente expresadas en bajos niveles en condiciones normales y su expresión puede ser inducida por componentes bacterianos o por mediadores inflamatorios (Harder y Cols, 2001; Dhople y Cols, 2006).

La beta defensina 3 (hBD-3) se localiza principalmente en la membrana basal del epitelio. Su expresión ha sido reportada en la membrana basal en muestras de tejido periodontal sano, pero en muestras de pacientes con enfermedad periodontal, es expresada en las capas celulares espinosas y basales (Dunsche A y cols, 2002). Además de la actividad antimicrobiana directa que presenta, la hBD-3 induce de forma directa la presentación de antígenos por parte de las células dendríticas y la memoria inmunológica en las células linfocitarias T,

actuando como un link entre la inmunidad innata y la adaptativa (Lu Q y cols, 2004).

Lu Q y cols, en 2005, en un estudio para determinar los niveles de hBD-3, en biopsias gingivales de sujetos con periodontitis crónica versus sujetos sanos, a través de técnicas de inmunohistoquímica *in situ*; reportaron que hBD-3 se detectó en el 88% de las muestras de tejido gingival. En sujetos control (sanos) la hBD-3 presentó una mayor expresión en la membrana basal al comparar con los sujetos enfermos, mientras que en los pacientes enfermos fue más expresada en las capas espinosas superiores, además de células de Langerhans y de Merkel. Lo cual sugiere que la expresión apropiada de hBD-3 puede contribuir al mantenimiento de la homeostasis periodontal, posiblemente a través de su efecto antimicrobiano y promoción de la respuesta inmune adaptativa.

La interleuquina 8 (IL-8) es una citoquina proinflamatoria, inducida y secretada por varios tipos celulares, como monocitos, fibroblastos, células epiteliales y endoteliales, en condiciones de inflamación (Daniels RH y cols, 1992; Smith WB y cols, 1993). Esta citoquina es una molécula quimiotáctica altamente atrayente de Neutrófilos Polimorfo Nucleares (PMNN). Su mecanismo de acción se desarrolla mediante la inducción de moléculas de adhesión en las paredes endoteliales de los vasos sanguíneos para favorecer la migración de los PMNN a los tejidos periodontales inflamados (Matsushima K y cols, 1992).

La IL-8 actúa directamente en los fibroblastos presentes en el tejido periodontal aumentando la secreción de IL- $1\beta$  y TNF $\alpha$ , moléculas pro inflamatorias que actúan a nivel endotelial para inducir la expresión de proteínas de adhesión que favorecen la migración de los PMNN al sitio de infección (Konopka L y cols, 2012). Durante la inflamación aguda, el número de PMNN en el tejido periodontal puede ser extremadamente alto debido a la llegada desde el torrente sanguíneo y por la disminución en su apoptosis mediante la acción de mediadores inflamatorios locales. Así, la capacidad de daño tisular, por medio de la liberación de radicales libres derivados del oxígeno y enzimas proteolíticas, que son capaces de hidrolizar proteínas de matriz y degradar el colágeno tisular. Por tanto, el proceso de apoptosis normal de los PMNN, que permite mantener un número apropiado de células en condiciones fisiológicas, al estar alterado en condiciones de

inflamación, juega un papel fundamental en la destrucción del tejido periodontal (Akgul C y cols, 2001).

### Respuesta inmune adaptativa

La inmunidad adaptativa es mediada por los linfocitos T y B, células que proveen de una gran versatilidad en términos de defensa y generan memoria inmunológica, lo que implica una protección contra una reinfección con el mismo patógeno. Las células T CD4 controlan las actividades funcionales de la inmunidad innata y adaptativa, y determinan el resultado de la respuesta inmune contra la infección. Después de la estimulación antigénica, las células presentadoras de antígenos inducen a las células T CD4 *naive* a proliferar y a diferenciarse en distintos tipos efectoras, esto mediante la unión del complejo MHC (Complejo mayor de Histocompatibilidad) de tipo II de la célula presentadora de antígenos, con el TCR (Receptor de linfocitos T) de los las células T CD4 *naive*, a nivel de los ganglios linfáticos. Los distintos tipos efectoras pueden ser: T Helper 1 y 2 (Th1 y Th2), además Th17 y Th reg.

La subpoblación Th 17 es capaz de secretar Interleuquina 17 (IL-17), la que estimula a las células epiteliales, endoteliales y fibroblásticas para producir IL-6, IL-8 y prostaglandinas E2 (PGE2). Además, esta interleuquina participa en la osteoclastogénesis debido a la inducción de la expresión de RANKL en las células osteoblásticas. Por su parte, los osteoclastos inmaduros expresan RANK, y al unirse al RANKL, se activan para inducir la reabsorción ósea en las enfermedades periodontales. Por ello, la IL-17 está indirectamente implicada en la reabsorción ósea en la enfermedad periodontal (Lockhart y cols. 2006; Vernal y García-Sanz JA, 2008). En este sentido, varios estudios han reportado niveles elevados de IL-17 en lesiones periodontales, lo que podría hacer suponer que la IL-17 juega un papel en este proceso (Ohyama H y cols. 2009; Vernal R y cols, 2005; Takahashi y cols, 2005).

## **2.1. Tratamiento Periodontal**

El tratamiento periodontal convencional no quirúrgico es la terapia estándar para la periodontitis. Consiste en la remoción y control mecánico del biofilm

bacteriano y cálculo supra y subgingival (Rhemrey y cols. 2006). Este tratamiento logra convertir la flora patógena en una flora compatible con salud de manera temporal ya que en meses se restablece una flora más agresiva (Van Winkelhoff y cols. 1998). La dinámica de la recolonización depende de la eficacia del tratamiento periodontal y del nivel de higiene oral por parte del paciente.

El uso de antibióticos o antisépticos orales o sistémicos como coadyuvantes del tratamiento periodontal, ha sido debatido durante muchos años. En la revisión sistemática de Herrera D y cols. (2008), fue reportada la efectividad de los antibióticos en combinación con la terapia periodontal, y según la misma revisión, se sugiere que la ingesta de antibióticos debe comenzar en el día de finalización del tratamiento periodontal, el que debe ser completado dentro de un corto período de tiempo (preferiblemente <1 semana) y realizado adecuadamente, para optimizar los resultados (Herrera D y cols. 2008).

En otros estudios, se han reportado también los beneficios microbiológicos y clínicos del uso de antibióticos asociado con el tratamiento periodontal y han demostrado una mayor reducción de la profundidad al sondaje periodontal en sitios profundos (>6 mm), reducción del sangrado al sondaje y una mayor ganancia de inserción clínica periodontal (Van der Weijden y Timmerman, 2002; Zandbergen y cols, 2013). Sin embargo, se requiere la prescripción adecuada de los antimicrobianos para seleccionar el antibiótico apropiado, para así minimizar los efectos adversos que se pueden generar (malestares gastrointestinales, colitis pseudomembranosa y alergia medicamentosa) y disminuir la posible resistencia a los mismos (Cruz E. y cols, 2014). Además, hoy en día se sabe que los antibióticos no mejoran el efecto de la terapia a largo plazo, y que no existe un esquema antibiótico definido (Quirynen y cols. 2002).

Por esta razón se están centrando los esfuerzos de investigaciones en el restablecimiento de un equilibrio microbiológico, por medio de “bacterias beneficiosas”, que podrían ser efectivas en la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal

## 2.2. Probióticos

El término probiótico proviene del término griego que significa “ayuda o favorece a la vida” (Vanderpool y cols., 2008). Su aparición data de los principios del siglo XX, por medio del premio nobel ruso Elie Metchnikoff. Postuló que bacterias provenientes de productos fermentados, competían con los microorganismos que eran dañinos para la salud (Caglar y cols., 2005). Fue entonces que nació el concepto probiótico y se abrió un nuevo campo en la microbiología (Meurman, 2005).

Debido al aumento de investigaciones en las ciencias básicas y estudios clínicos, la Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO - Food and Agriculture Organization) y la Organización Mundial de la Salud (WHO - World Health Organization) definieron el término probiótico como: “microorganismos vivos, los cuales, cuando son consumidos en cantidades adecuadas como parte de los alimentos, brindan un beneficio en la salud del huésped” (FAO/WHO, 2001; Vanderpool, 2008; Mayanagi y cols., 2009).

Las bacterias comúnmente utilizadas como probióticos son las especies de *Lactobacillus*, especies de *Bifidobacterium*, especies de *Streptococcus*, y especies de *Enterococcus*. No todos los probióticos tienen el mismo efecto ni la misma eficacia, por lo que es necesario definir bien las potenciales cepas probióticas antes de su uso (Meurman, 2005).

Definidos como “probióticos médicos” (preparación microbiana) y “otros probióticos” (alimentos funcionales), los probióticos se ofrecen en productos en cuatro formas básicas (Caglar y cols., 2005):

- Como un cultivo concentrado añadido a una bebida o a un alimento (como un jugo de fruta).
- Inoculado en fibras prebióticas (ingredientes no digestibles que se encuentran en los alimentos que favorecen el crecimiento de los probióticos).
- Inoculado en alimentos lácteos (productos de consumo diario como leche, yogurt y queso).

- Como concentrado y envasado como suplementos dietéticos (productos que no son de consumo diario como cápsulas de gelatina, tabletas, polvo, gomas de mascar y gotas)

En los últimos años, la investigación sobre probióticos ha progresado considerablemente, lográndose avances en la caracterización de cepas probióticas, en las dosis y frecuencia de administración necesaria para obtener un efecto beneficioso, en su relación con ciertas patologías y en la seguridad de su consumo. Desde luego, la gran parte de la investigación se ha realizado en el campo de las enfermedades extraorales, pero en relación con las patologías que afectan a la cavidad oral existen numerosas áreas de aplicación abiertas, como son la caries, la candidiasis, la halitosis y la enfermedad periodontal, que requieren estudios que las avalen (Khani y cols, 2012).

### **2.3. Probióticos y la Salud Oral**

Grudianov y col. en 2002, reportaron que los probióticos se adhieren al tejido dental, establecen un efecto cariostático y pueden formar parte del biofilm que compite contra las bacterias cariogénicas (Caglar y cols, 2005). Wei y col. en 2002, produjeron altas concentraciones de anticuerpos contra las bacterias cariogénicas humanas: *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, en calostro de leche fermentada de bovino (Wei y cols., 2002). Vancikova y col. en 2003, basándose en el estudio anterior, observaron que los probióticos mejoran la respuesta oral inmune (Caglar y cols., 2005). Hatakka y col. (2007), en un estudio en adultos mayores, los cuales consumieron queso probiótico, reportaron que los probióticos reducen la prevalencia de *Candida spp.* oral, y también la hiposalivación.

Ha sido reportado en estudios, que los probióticos ejercen su efecto sin llegar a colonizar o mediante una colonización temporal del hospedero. Tan pronto como se detiene su consumo, las bacterias probióticas comienzan a ser excretadas (Caglar y cols, 2009).

El hecho de que no necesiten necesariamente colonizar al hospedero para ejercer sus efectos puede ser atribuido a sus mecanismos de acción. Teughels y

cols. en 2011 realizaron una revisión de la literatura y observaron que los mecanismos principales de acción de los probióticos, que se considera que pueden influir en la cavidad oral son tres:

2.3.1. Modulación de las defensas del hospedero, tanto de la inmunidad innata como la adquirida.

La acción de los probióticos, pueden actuar en una amplia variedad de células para modular el sistema inmune hacia una reacción anti-inflamatoria. En un estudio en 2002, fue reportado que el consumo de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*, generó un aumento de la capacidad fagocítica de los macrófagos.

En otro estudio fue reportado que los probióticos pueden regular la expresión de los receptores de la fagocitosis en los PMNN, en individuos sanos y mejoran la actividad celular de *Natural Killers*.

Se ha reportado también, que el consumo de probióticos, permite modular la respuesta inmune a través de la inmunidad adaptativa, aunque los sistemas de regulación aún no están claros de manera exacta.

En otro estudio en 2007, se reportó *in vivo*, los efectos inmunomoduladores de *Lactobacillus brevis* en la enfermedad periodontal. El uso de este probiótico dio lugar a una disminución significativa en los mediadores inflamatorios presentes en la saliva, tales como la actividad de Metaloproteinasas y óxido nítrico sintetasa, prostaglandina E2 e interferon gamma.

2.3.2. La producción de sustancias antimicrobianas

Las bacterias probióticas pueden producir una diversa gama de compuestos que actúan como antimicrobianos, agentes tales como el ácido láctico, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas.

Ácidos orgánicos como el ácido láctico, pueden pasar a través de la membrana celular bacteriana y acidificar el citoplasma, lo que a su vez puede inhibir la proliferación bacteriana. A este respecto, en un estudio en 2001, aislaron los *Lactobacillus* (productoras de ácido láctico),

obtenidas de las cavidades orales de voluntarios tailandeses sanos y reportaron que tenían una actividad antimicrobiana contra *P. gingivalis* y *Streptococcus mutans*. Esta actividad fue mayor a un pH ácido, lo que indica que el efecto antimicrobiano fue mediado en parte por los ácidos orgánicos como el ácido láctico.

En estudios *in vitro* e *in vivo* han reportado que la producción de peróxido de hidrógeno por cepas bacterianas probióticas puede inhibir el crecimiento de ciertas especies de periodontopatógenos.

Las bacteriocinas han sido reportadas como péptidos catiónicos sintetizado en los ribosomas, con un espectro de actividad antimicrobiana medio.

### 2.3.3. Mecanismos de exclusión competitiva.

El principio de exclusión competitiva propone que dos especies que compiten por los mismos recursos no pueden coexistir de forma estable. Uno de los dos competidores siempre tendrá una ligera ventaja sobre el otro, lo que conduce a la extinción del segundo competidor o un cambio de esta especie a otro nicho. Este principio puede ocurrir en dos niveles:

- Dificultando la adherencia de patógenos

La literatura señala que las cepas probióticas se adaptan bien al nicho de patógenos potenciales, y pueden interferir en la enfermedad pasivamente ocupando el nicho o restringiendo activamente la capacidad de adhesión de patógenos a las superficies. Sin embargo, la certeza de que estos mecanismos se producen *in vivo*, no está suficientemente respaldado. Se ha demostrado que varias cepas bacterianas, principalmente *Streptococci* pueden obstaculizar la colonización de periodontopatógenos a superficies de tejidos duros y blandos *in vitro*.

Además, se ha reportado que los probióticos pueden inhibir la adhesión de los periodontopatógenos modificando la composición de la proteína del sitio de unión. En este aspecto, en un estudio en 2008, se reportó que ciertas cepas probióticas alteran la unión a la película salival,



mediante la unión de la proteína de adhesión aglutinina salival gp340 con la bacteria probiótica, que es necesaria para la adhesión de *S. mutans*, disminuyendo su número y por ende dando como resultado una menor eficiencia de colonización de *S. mutans*.

- La competencia por los nutrientes esenciales

Las bacterias pueden competir por ciertos nutrientes o productos químicos esenciales necesarios para el crecimiento y, al hacerlo, pueden inhibir el crecimiento de un patógeno.

## **2.4. Probióticos y Enfermedad Periodontal**

Considerando que el tratamiento de las enfermedades periodontales busca la eliminación de patógenos específicos y la supresión de la respuesta destructiva del huésped, el enfoque de la terapia con probióticos puede ser de utilidad para lograr el objetivo de estos tratamientos (Stamatova y Meurman, 2009).

Este tratamiento busca transformar la microbiología subgingival patógena en una menos patógena, que se caracterizaría por una alta proporción de especies aerobias Gram positivas y bajas proporciones o, preferiblemente, ausencia de patógenos periodontales (Ximenez- Fyvie y cols 2000).

Teughels y col. (2007), en un estudio realizado en perros beagle, muestra la aplicación subgingival de probióticos como coadyuvante del tratamiento de pulido y alisado radicular (no se aplicó terapia antibiótica), lo que se denominó “Recolonización Guiada del saco periodontal”. Esto generó un mayor grado de carga microbiana “benéfica” en los sacos periodontales, impidiendo la recolonización de los periodontopatógenos. Esta técnica no evitó totalmente la recolonización de periodontopatógenos, pero sí retardó el proceso significativamente. Esta técnica prueba la teoría del uso de probióticos en la recolonización tardía del saco periodontal en un modelo animal y se podría considerar como una alternativa de tratamiento válida para la periodontitis en vista de la creciente resistencia antibiótica.

En el año 2013, se realizó un ensayo clínico aleatorio controlado con placebo para evaluar los efectos de *L. reuteri* contenido en comprimidos

probióticos como complemento del tratamiento de pulido y alisado radicular (PAR) en pacientes con periodontitis crónica. Los pacientes fueron divididos al azar en 2 grupos de 15 individuos cada uno: grupo experimental (PAR + probiótico) y grupo control (PAR + placebo). Los comprimidos probióticos se utilizaron dos veces al día durante 12 semanas. Los parámetros clínicos y microbiológicos se evaluaron al inicio, 3, 6, 9 y 12 semanas después de la terapia. A las 12 semanas hubo una reducción significativa en el número de *P.gingivalis* en el grupo experimental en comparación con los controles (Teughels y cols, 2013).

Shimauchi y col. (2008), en un estudio doble ciego, en pacientes fumadores y no fumadores que no presentaban periodontitis severa (se consideraron así dientes con profundidad al sondaje (PS)  $\geq 6$  mm, con movilidad excesiva y abscesos), tomó dos grupos al azar y administró tabletas conteniendo *Lactobacillus salivarius* WB2 en un grupo y placebo (xilitol) en el otro, encontrando que la administración oral del probiótico *L. salivarius* WB21 disminuye significativamente el índice de placa y la profundidad al sondaje de los pacientes fumadores, lo que sugiere una mejoría clínica de las condiciones periodontales mediante el uso del probiótico. También se observó una diferencia significativa de los niveles salivales de lactoferrina, la cual está correlacionada con los parámetros clínicos de periodontitis, a las ocho semanas para los pacientes fumadores; concluyendo así que los probióticos son útiles para la mejora y mantenimiento de la salud oral en los pacientes con un alto riesgo de enfermedad periodontal.

Mayanagi y col. (2009), en un estudio donde se administró en forma oral *L. salivarius* WB21 a pacientes con periodontitis, muestra que se redujo la cantidad de cinco bacterias periodontopatógenas: *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tanarella forsythia*, lo cual contribuyó a mejorar las condiciones periodontales, incluyendo la profundidad al sondaje, el índice de placa, el índice gingival y el índice de sangrado.

En un estudio más reciente realizado en 2015, por Ince y cols. fueron evaluados los efectos clínicos y bioquímicos que generaba el consumo de tabletas probióticas de *L. reuteri* como coadyuvante del tratamiento periodontal convencional. En este se reclutaron 30 pacientes con periodontitis crónica, los cuales fueron divididos al azar en 2 grupos de igual número, a uno se le realizó el

tratamiento periodontal (PAR) y se le entregó las tabletas del probiótico, y al otro se le realizó el tratamiento periodontal (PAR) y se le entregó tabletas de un placebo. La medición de los parámetros clínicos y las muestras de FCG para la evaluación bioquímica fueron recopilados en los días: 0, 21, 90, 180 y 360. Los resultados obtenidos muestran una mejoría clínica significativa de los parámetros clínicos (índice de placa, índice gingival, sangrado al sondaje, profundidad al sondaje, nivel de inserción clínica) y a nivel bioquímico, los resultados fueron obtenidos mediante ELISA, y en ellos se evidencia una disminución significativa de la metaloproteinasa de matriz 8 (MMP-8), una enzima proteolítica responsable de destrucción de tejido conectivo en condiciones inflamatorias, y un aumento del inhibidor tisular de metaloproteinasa 1 (TIMP- 1), el que está involucrado en la regulación de las MMP y que su presencia es asociada a condiciones de salud periodontal. Estos resultados fueron significativos desde el día 180 de comenzado el estudio (Ince y cols. 2015).

En un estudio realizado también en 2015, por Tekce M y cols. fue evaluado el efecto generado por el consumo de tabletas de *L. reuteri* como coadyuvante del tratamiento periodontal, en los parámetros clínicos y microbiológicos de pacientes con periodontitis crónica. Para esto reclutaron 40 pacientes con periodontitis crónica y los dividieron al azar en 2 grupos de igual número, al primero le realizaron un tratamiento periodontal convencional y le entregaron las tabletas probióticas, y al segundo le realizaron el tratamiento periodontal convencional y le entregaron tabletas con placebo. Estas se consumieron 2 por día por 3 semanas. La medición de los parámetros clínicos y las muestras microbiológicas fueron recopiladas a los días 0, 21, 90, 180 y 360. Los resultados obtenidos mostraron una significativa mejoría de los parámetros clínicos (índice de placa, índice gingival, sangrado al sondaje y profundidad al sondaje) en el grupo probiótico. Similares resultados fueron obtenidos mediante los cultivos celulares, a excepción de la medición a los 360 días, en que la medición de bacterias patógenas aumentó. De esto concluyeron que el probiótico no genera una colonización del tejido dentario, pero que fue capaz de evitar la recolonización de bacterias patógenas periodontales al menos hasta los 6 meses de comenzado el estudio.

## 2.5. *Lactobacillus rhamnosus* y enfermedad periodontal

Los Lactobacilos constituyen aproximadamente el 1% de la microflora oral cultivable. Las especies que se encuentran comúnmente en la saliva son: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus salivarius* (Teanpaisan y Dahlen, 2006).

Gorbach y Goldin (1985) aislaron del intestino humano el *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) que es la bacteria probiótica que ha sido más ampliamente estudiada (Meurman, 2005). Se reportó que produce una sustancia con un potencial inhibitorio contra la actividad de diferentes especies bacterianas, incluyendo las especies cariogénicas como los *Streptococcus spp* (Haukioja y cols., 2008).

En el año 2001, en un estudio en niños de 1 a 6 años, en Finlandia, fue evaluado el efecto de *L. rhamnosus* GG (LGG) en leche, y se reportó que reduce significativamente el riesgo de caries (Caglar y cols., 2005). En el año 2002, reportaron que la intervención con probióticos: *L. rhamnosus* GG y *Bifidobacterium spp.* reduce el riesgo de caries al reducir los niveles de *Streptococcus mutans* (Caglar y cols, 2005).

Yli-Knuutila y cols. (2006) tras estudiar la administración y colonización de la cavidad oral por parte del *L. rhamnosus* GG, concluyeron que es improbable colonizar de forma permanente la cavidad oral con dicho probiótico (aunque posible en algunos casos) y que era preciso su administración de forma continua.

En 2011, en un estudio *in vitro*, se reportó que distintas cepas de *Lactobacillus*, entre ellas *L. rhamnosus* SD5, mostraron un fuerte efecto inhibitorio en contra de *S. mutans* y *S. sobrinus*, así como de, periodontopatógenos gram negativos como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*, al inhibir el crecimiento de estos en placas de agar (Teanpaisan R y cols, 2011).

Aunque aún existen pocos estudios que respalden la efectividad del uso de probióticos en el tratamiento periodontal, la evidencia que existe actualmente da indicios de que puede ser un determinante a ser considerado en el tratamiento de la periodontitis, dando una alternativa al uso de antibioterapia sistémica que

actualmente se utiliza como coadyuvante para obtener mejores resultados clínicos. (Yanine y cols, 2013)

El *Lactobacillus rhamnosus SP1*, es un clon de *Lactobacillus rhamnosus GG*, y de él no existe evidencia que sustente su efectividad cuando es usado en conjunto con la terapia periodontal en pacientes que presentan periodontitis crónica, es por esto que este estudio cobra relevancia, al estudiar la efectividad de esta cepa probiótica, en los parámetros clínicos e inmunológicos, al usarla como coadyuvante del tratamiento periodontal en pacientes con periodontitis crónica.

### **3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1. HIPÓTESIS**

Existen diferencias en los efectos clínicos e inmunológicos en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no quirúrgica con y sin probiótico oral.

#### **3.2. OBJETIVO GENERAL**

Determinar los efectos clínicos e inmunológicos en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no quirúrgica con y sin probiótico oral, en el tiempo basal y al finalizar la intervención.

#### **3.3. OBJETIVO ESPECÍFICO**

Determinar los parámetros periodontales evaluados en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no quirúrgica con y sin probiótico oral, en el tiempo basal y al finalizar la intervención

Determinar los niveles de hBD-3, IL-8 e IL-17 en el fluido crevicular, en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no quirúrgica con y sin probiótico oral, en el tiempo basal y al finalizar la intervención.

Comparar los efectos clínicos e inmunológicos entre los grupos control y experimental, obtenidos en el presente estudio.

## 4. METODOLOGÍA

Se realizó un ensayo clínico de diseño paralelo, aleatorizado, enmascarado y con control mediante placebo para determinar el efecto producido por el probiótico *Lactobacillus rhamnosus SP1*, dispensado en polvo de disolución oral, en conjunto con el tratamiento de pulido y alisado radicular (PAR), en los parámetros clínicos e inmunológicos de pacientes con periodontitis crónica.

### 4.1. Universo:

Pacientes adultos de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, así como voluntarios que manifestaron su intención de participar del presente estudio.

### 4.2. Muestra:

El tamaño muestral (Camacho-Sandoval J, 2008) fue calculado considerando:

-Diferencia (d)  $\geq$  1mm entre los grupos para cambios en el promedio del nivel de inserción clínica.

-Desviación estándar (S) de 1mm

$-\alpha=0.05$

-Poder estadístico  $(1-\beta)= 80\%$

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot S^2}{d^2}$$

$Z_{\alpha}=1.960$

$Z_{\beta}=0.842$

$S=1$

$d=1$

El tamaño de cada grupo debió ser de 15 individuos.

El tamaño de la muestra para este estudio que evaluó los resultados preliminares, fue de un total de 16 pacientes los que fueron asignados de forma aleatoria al grupo experimental (probiótico) y al grupo control (Placebo), 8 individuos en cada uno respectivamente.

### 4.3. Criterios de inclusión:

Los participantes debían presentar  $\geq 35$  años de edad, presentaban  $\geq 14$  dientes naturales, excluyendo los terceros molares, y  $\geq 10$  dientes posteriores.

Se diagnosticaron con periodontitis crónica los que tenían  $\geq 5$  dientes con profundidad al sondaje  $\geq 5$ mm, pérdida de inserción clínica  $\geq 3$ mm, sangrado al

sondaje  $\geq 20\%$  de los sitios y pérdida ósea alveolar determinada radiográficamente.

#### **4.4. Criterios de exclusión:**

Fueron excluidos los pacientes que habían recibido previamente un tratamiento periodontal, que presentaban enfermedades sistémicas, estado de gravidez, terapia con anticoagulantes, antibióticos o antiinflamatorios no esteroideos (AINES) dentro de los seis meses anteriores al comienzo del estudio.

El consumo previo de productos que contienen probióticos fue registrado en un Formulario de Hábitos Alimenticios (Anexo 1).

#### **4.5. Implementación del ensayo clínico:**

##### Aleatorización:

Luego del reclutar a los participantes del estudio, el cual se realizó mediante un sondeo inicial (Anexo 2), los pacientes fueron asignados aleatoriamente al grupo control o al grupo experimental, considerando el género, edad y el hábito tabáquico luego del examen de las características basales. Para ello, se utilizó una tabla de número aleatorios. Esto fue realizado por un investigador que tenía una mínima relación con las mediciones y el tratamiento.

##### Ocultamiento de la secuencia aleatoria y ejecución:

La aleatorización fue ocultada mediante el uso de contenedores de igual apariencia, numerados de forma secuencial, que contenían las dosis necesarias de probiótico o placebo, para todo el tiempo que demoró el estudio. La secuencia de asignación fue generada por un estadístico mediante el uso de una tabla de número aleatorios.

Después de esto, cada participante fue asignado al grupo experimental o al grupo control. Todos recibieron una instrucción de higiene oral y un tratamiento periodontal completo, consistente en terapia periodontal no quirúrgica de PAR por cuadrante, y una terapia de soporte periodontal cada 3 meses. Los grupos fueron:

- Grupo experimental: En conjunto con el tratamiento de PAR, recibieron un sobre de polvo de disolución oral de *Lactobacillus rhamnosus* SP1 ( $1 \times 10^8$  CFU/comprimido), el cual consumieron 1 diario por 3 meses.



-Grupo control: En conjunto con el tratamiento de PAR, recibieron un sobre de polvo de disolución oral, el cual tuvo el mismo sabor, textura y apariencia que el del grupo experimental. Consumieron 1 al día por 3 meses.

Enmascaramiento:

Después de la asignación a los grupos experimental o el de control, los pacientes, tratantes, evaluador de resultados, recolector de datos, y analista de datos fueron cegados.

Seguimiento:

Se realizó un monitoreo de las indicaciones durante todo el período del estudio. Donde se consignaron las pérdidas, abandonos, violación de protocolo y cambios de terapia si las hubiese.

**4.6. Técnica de recolección de datos**

A cada sujeto se le realizó un examen clínico periodontal y una colección de Fluido Crevicular Gingival (FCG) para la cuantificación de los niveles de Interleuquina 8 (IL-8), Interleuquina 17 (IL-17) y beta defensina 3 (hBD-3)

Examen clínico periodontal:

A cada uno de los participantes se les realizó un examen clínico periodontal, el cual fue realizado por un investigador previamente calibrado y que consiguió una correlación intraclase mayor a 0.8.

Los datos obtenidos fueron consignados en un formulario de evaluación clínica (Anexo 3). Se examinaron todos los dientes, excepto los terceros molares. Mediante el uso de una sonda periodontal manual de primera generación (UCN-15, Hu Friedy, Chicago, IL, USA) se examinaron seis sitios (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) por diente, y se registraron los siguientes parámetros periodontales:

- Profundidad de Sondaje (PS)
- Posición de la encía (PE)
- Sangrado al Sondaje (SS)
- Índice de Placa (IP)

El Nivel de Inserción Clínica (NIC) se calculó luego por la resta aritmética entre la PS y la PE medidas.

Se aproximó la medición al milímetro superior.

Los parámetros clínicos fueron consignados el día 0 y al término de la toma del probiótico.

Durante todo el procedimiento, se respetaron las normas de bioseguridad necesarias para este tipo de intervenciones (material estéril, guantes desechables, mascarillas, toallas de papel, gasa, líquidos de desinfección y algodón).

#### Colección de Fluido Crevicular Gingival:

El diente fue aislado con algodón para remover la placa supragingival con cureta (Hu Friedy, Chicago, IL, USA). Posteriormente el sitio fue secado con aire usando jeringa triple en dirección paralela al eje mayor del diente, hacia la superficie oclusal de éste. La muestra de FGC fue tomada con tiras de papel absorbente (Periopaper™, Smithtown, NY, USA), utilizándose 3 tiras por sitio, las cuales se introdujeron de a una en el saco periodontal hasta sentir una resistencia suave y se mantuvieron en el lugar por 30 segundos. Las tiras contaminadas con saliva o sangre fueron descartadas del estudio. Las muestras colectadas se guardaron en microtubos y se almacenaron a -80°C hasta ser procesadas.

La colección del FGC fue realizada el día 0 y al término de la toma del probiótico.

#### Elusión de FCG y determinación de niveles de hBD-3, IL- 8 e IL-17

El FCG fue extraído mediante elución desde las tiras de papel. Se agregaron 40µl por tira de NaCl 0,9% con inhibidores de proteasas (Cocktail inhibidor de proteasas libre de EDTA, marca Roche). Luego, las muestras fueron agitadas en *Vortex* por 30 segundos e incubadas a 4°C por 30 minutos. Posteriormente, fueron centrifugadas a 12500 rpm por 5 minutos a 4°C utilizando centrifuga. El fluido fue traspasado a un segundo microtubo, repitiéndose el procedimiento descrito, colectando al finalizar ambos fluidos en un mismo tubo.

Para determinar los niveles de las interleuquinas en el estudio, presentes en el FGC, se realizó una cuantificación mediante inmunoensayo ELISA, según las indicaciones del fabricante.

#### **4.7. Consideraciones éticas**

El protocolo de este estudio fue revisado y aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Anexo 4). Además, se rigió según el marco legal que regula a los Ensayos Clínicos en Chile, y en conformidad con la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en el año 2000.

A cada participante que cumplía con los criterios de inclusión, le fue entregado un consentimiento informado (Anexo 5) para que fuera revisado, consentido y firmado por él para su aprobación e ingreso al estudio. A todos los participantes se le informó de su salud oral. A todos los participantes además, se les instruyó para mejorar su higiene oral y recibieron un tratamiento periodontal completo y terapia de mantención periodontal cada 3 meses finalizado el estudio. En caso de que el participante hubiese manifestado no desear seguir participando en el ensayo clínico, no se le negaría el tratamiento.

#### **4.8. Confidencialidad:**

La confidencialidad de los pacientes fue respetada en todas las fases del proceso. Sólo el investigador principal conocía el nombre de los pacientes que podrían ser incluidos en el estudio. El Formulario de Registro Clínico utilizado para recoger los datos de las citas de seguimiento tenía un elemento con el nombre del paciente, pero cuando se introdujeron los datos a la base de datos el nombre fue cambiado por un código de identificación. Las copias del Formulario de Registro Clínico fueron revisadas por el investigador principal. Fotos de los pacientes no se tomaron en ninguna de las fases del estudio.

#### **4.9. Análisis de resultados y métodos estadísticos**

Para todas las evaluaciones estadísticas, los pacientes fueron considerados como unidad de medida. El cumplimiento de los parámetros de distribución normal fue evaluado usando el test de Shapiro Wilk. El equilibrio de los grupos por edad y sexo, fue evaluado mediante los test de U de Mann-Whitney y Chi cuadrado, respectivamente. Los test de Wilcoxon y el test de U Mann-Whitney fueron utilizados para comparar los parámetros intragrupo e intergrupo, respectivamente. Un nivel de 95% de confianza fue considerado como la representación de significación estadística ( $p < 0,05$ ). Se realizó el análisis estadístico utilizando Microsoft Excel® 2011 y Stata® (StataCorp, College Station, TX) paquete estadístico para Mac.

#### **4.10. Conflictos de interés:**

El investigador principal y cualquiera de los otros investigadores de este estudio no tenían conflicto de intereses. Ninguna compañía farmacéutica u otra entidad recibieron beneficios directos o importantes.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Evaluación Clínica de los pacientes

Se reclutaron 16 pacientes. El 50% correspondía al género femenino, y la media de edad fue de  $51.87 \pm 9.89$  años. El grupo experimental y el control estuvieron compuestos por 8 pacientes, cada uno. El grupo experimental y control estuvo compuesto por un 50% de pacientes de género femenino, y un 50% del masculino. La media de edad del grupo experimental fue de  $52.62 \pm 8.29$  años, y del grupo control,  $51.12 \pm 11.81$  años. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables demográficas entre ambos grupos (ver Tabla 1).

En relación a los parámetros clínicos, la pérdida de inserción clínica y de la profundidad al sondaje del grupo experimental fue de  $3.27 \pm 0.81$  mm y  $2.71 \pm 0.33$  mm, mientras que la del control fue de  $2.83 \pm 1.19$  mm y  $2.32 \pm 0.38$  mm, respectivamente. La posición de encía del grupo experimental fue de  $0.56 \pm 0.67$  mm de recesión y del control,  $0.51 \pm 0.99$  mm de recesión. Finalmente, el índice de sangrado y de placa del grupo experimental fue de  $40.37\% \pm 10.26\%$  y  $57.90\% \pm 14.80\%$ , y del grupo control,  $27.97\% \pm 18.66\%$  y  $37.35\% \pm 22.03\%$ , respectivamente. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (ver Tabla 1)

**Tabla 1: Características basales demográficas y clínicas del grupo experimental y del grupo control.**

	Grupo Experimental (n=8)		Grupo Control (n=8)		p-value
	F=50%	M=50%	F=50%	M=50%	
Edad (años)	52.62±8.29		51.12±11.81		0.8334 (test Mann Whitney)
Género	F=50% M=50%		F=50% M=50%		1 (chi <sup>2</sup> )
PIC (mm)	3.27±0.81		2.83±1.19		0.1275 (test Mann Whitney)
PS (mm)	2.71±0.33		2.32±0.38		0.1152 (test Mann Whitney)
PE (mm)	0.56±0.67		0.51±0.99		0.6744 (test Mann Whitney)
IS (%)	40.37±10.26		27.97±18.66		0.0929 (test Mann Whitney)
IP (%)	57.90±14.80		37.35±22.03		0.05 (test Mann Whitney)

PIC: Pérdida de inserción clínica, PS: Profundidad al sondaje; PE: Posición de encía; IS: Índice de sangrado; IP: Índice de placa. Todos los p-value son >0.05

Luego de tres meses post intervención, en el grupo experimental se observó una disminución significativa en la profundidad al sondaje, índice de sangrado e índice de placa, y un aumento significativo en la recesión gingival. En el grupo control, se reportó una disminución significativa en el índice de placa (ver Tabla 2). No existieron diferencias significativas entre ambos grupos al finalizar la intervención.

No se reportaron efectos adversos en el grupo experimental ni pérdidas o abandonos de pacientes. Todos los sujetos finalizaron el tratamiento.

**Tabla 2: Cambios en los parámetros clínicos del grupo experimental y control basal y a los 3 meses post intervención.**

Parámetro clínico	Tratamiento	Basal	3 meses	p-value
PIC (mm)	Probiótico	3.27±0.81	3.42±0.74	0.0793
	Control	2.83±1.19	2.98±1.08	0.2918
PS (mm)	Probiótico	2.71±0.33	2.14±0.25	0.0117*
	Control	2.32±0.38	2.21±0.34	0.6197
PE (mm)	Probiótico	0.56±0.67	1.27±0.78	0.0117*
	Control	0.51±0.99	0.76±0.91	0.0793
IS (%)	Probiótico	40.37±10.26	29.67±6.99	0.0499*
	Control	27.97±18.66	24.23±21.28	0.2924
IP (%)	Probiótico	57.90±14.80	30.70±16.05	0.0173*
	Control	37.35±22.03	18.32±20.53	0.0140*

PIC: Pérdida de inserción clínica; PS: Profundidad al sondaje; PE: Posición de encía; IS: Índice de sangrado; IP: Índice de placa. La significancia entre basal y 3 meses fue determinada usando el Test Wilcoxon (\*p<0.05). La significancia de la diferencia entre los grupos en cada tiempo fue determinada usando el test U- Mann Whitney (^p<0.05)

## 5.2. Evaluación de los parámetros inmunológicos

En relación a los parámetros inmunológicos, las muestras obtenidas del fluido crevicular gingival (FCG) de los pacientes de ambos grupos, fueron sometidas a estudios de inmunoensayo (ELISA) para realizar la cuantificación de los niveles de hBD-3, IL-8 e IL-17 presentes en el FCG, estos fueron tabulados y analizados en el tiempo (Tabla 3)

**Tabla 3: Cuantificación de los niveles de los parámetros inmunológicos evaluados.**

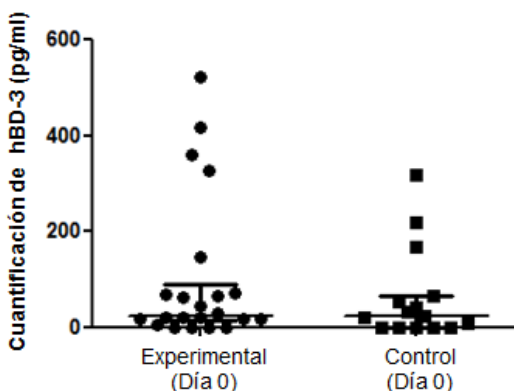
		Basal (día 0)		3 meses		<i>p</i> value
		Mediana (Pg/ml)	Rango intercuartílico	Mediana (Pg/ml)	Rango Intercuartílico	
<b>hBD-3</b>	Control	25	66	47	109	0,1344
	Probiótico	25,5	75.25	44,5	229.75	0,4587
<b>IL-8</b>	Control	559,5	786,5	570,5	798,5	0.0381*
	Probiótico	643,5	1239.5	228	222.25	0.0356*
<b>IL-17</b>	Control	65,71	101.16	9.143^	85.14	0,4676
	Probiótico	2,857	97.43	3.429^	17,14	0,7653

HBD-3: beta defensina 3; IL-8: interleuquina 8; IL-17: interleuquina 17.

La significancia entre basal y 3 meses fue determinada usando el Test Wilcoxon (\* $p < 0.05$ ). La significancia de la diferencia entre los grupos en cada tiempo fue determinada usando el test U- Mann Whitney (^ $p < 0.05$ )

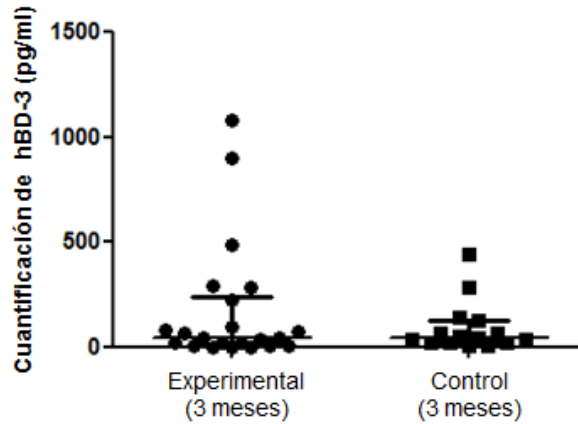
### 5.2.1. Cuantificación de los niveles de beta Defensina 3 (hBD-3)

Al realizar la comparación de los niveles de hBD-3 en el FCG entre los grupos control y experimental al comienzo del estudio, vemos que no muestran una diferencia significativa ( $p$  value 0,4451) de los niveles de hBD-3 (ver Tabla 3 y Figura 1).



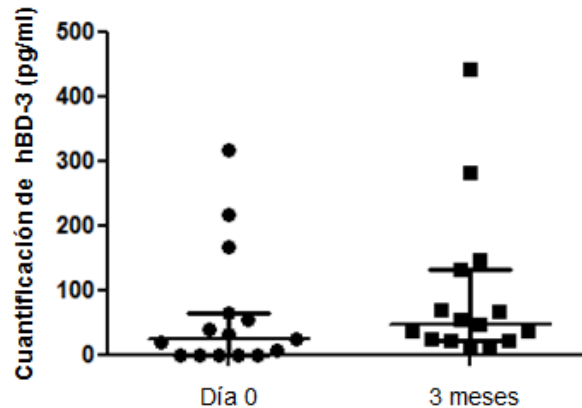
**Figura 1.** Comparación de los niveles de hBD-3 en FCG, entre el grupo control (placebo) y experimental (probiótico), cuantificado por ELISA, al comienzo del estudio.

Los resultados mostraron además, que no hay una diferencia significativa ( $p$  value 0,9383) al comparar los niveles de hBD-3 en el FCG entre los grupos control y experimental, al finalizar la intervención (ver Tabla 3 y Figura 2).



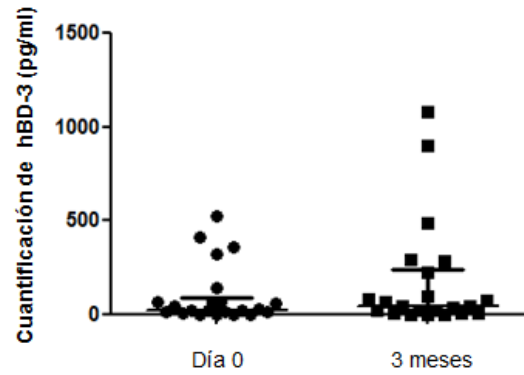
**Figura 2.** Comparación de los niveles de hBD-3 en FCG, entre el grupo control (placebo) y experimental (probiótico), cuantificado por ELISA, al finalizar el estudio.

Al determinar los niveles de hBD-3 en el FCG del grupo control, se puede observar un aumento no significativo ( $p$  value 0,1344) de los niveles de hBD-3 al tercer mes de uso de placebo, con respecto a los valores obtenidos al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 3).



**Figura 3. Cuantificación de hBD-3 en el grupo Control:** Evaluación de los niveles de hBD-3 en el FCG cuantificado por ELISA tanto al día 0, como al finalizar el tratamiento.

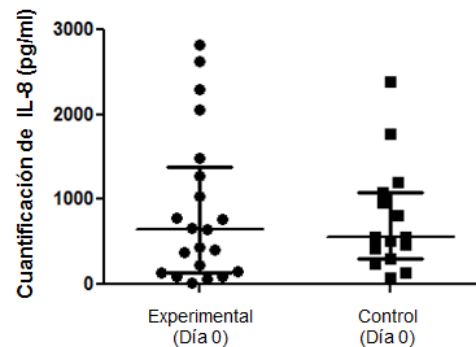
Se pudo observar al determinar los niveles de hBD-3 en el FCG del grupo experimental, que hay un aumento no significativo ( $p$  value 0,4587) de los niveles de hBD-3 al realizar el test de inmunoensayo al finalizar la intervención, con respecto a los valores obtenidos al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 4).



**Figura 4. Cuantificación de hBD-3 en el grupo experimental:** Evaluación de los niveles de hBD-3 en el FCG cuantificado por ELISA tanto al día 0, como al finalizar el tratamiento.

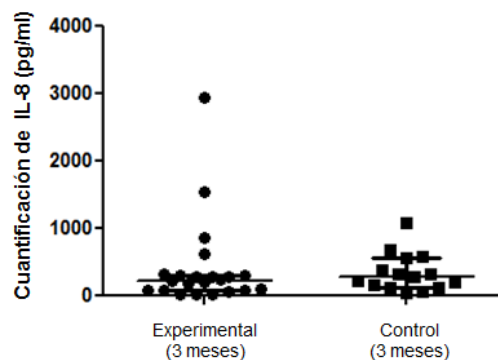
### 5.2.2. Cuantificación de los niveles de Interleuquina 8 (IL-8)

Al realizar la comparación de los niveles de IL-8 en el FCG entre los grupos control y experimental, no se observan diferencias significativas ( $p$  value 0,8473) en los niveles de IL-8, al realizar el test de inmunoensayo al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 5).



**Figura 5.** Comparación de los niveles de IL-8 en FGC, entre el grupo control (placebo) y experimental (probiótico), cuantificado por ELISA, al comienzo del estudio.

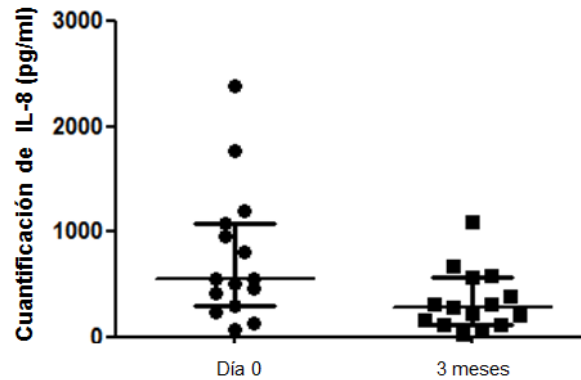
Se puede observar además, que hay una diferencia no significativa ( $p$  value 0,3454) al comparar los niveles de IL-8 entre los grupos control y experimental al finalizar la intervención (ver Tabla 3 y Figura 6).



**Figura 6.** Comparación de los niveles de IL-8 en FGC, entre el grupo control (placebo) y experimental (probiótico), cuantificado por ELISA, al finalizar el estudio.

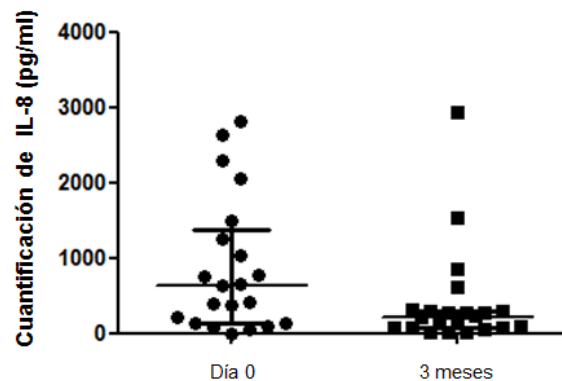


Al determinar los niveles de IL-8 en el FCG del grupo control, se evidencia una disminución significativa ( $p$  value 0,0381) de los niveles de IL-8, al tercer mes de uso de placebo, con respecto a los valores obtenidos al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 7).



**Figura 7. Cuantificación de IL-8 en el grupo Control:** Evaluación de los niveles de IL-8 en el FCG cuantificado por ELISA tanto al día 0, como al finalizar el tratamiento.

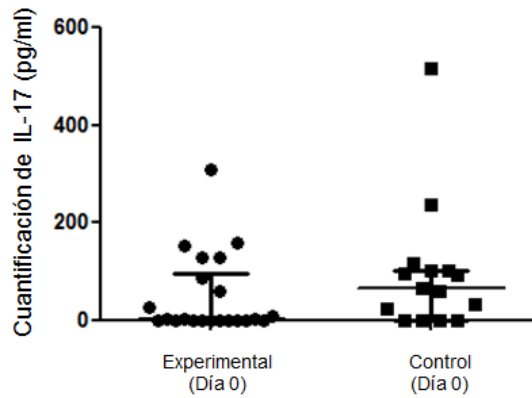
Los resultados mostraron, al determinar los niveles de IL-8 en el FCG del grupo experimental, que hay una disminución significativa ( $p$  value 0,0356) de IL-8 al realizar el test de inmunoensayo al finalizar la intervención, con respecto a los valores obtenidos al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 8).



**Figura 8. Cuantificación de IL-8 en el grupo experimental:** Evaluación de los niveles de IL-8 en el FCG cuantificado por ELISA tanto al día 0, como al finalizar el tratamiento

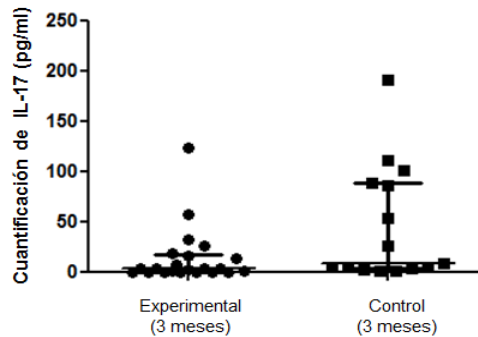
### 5.2.3. Cuantificación de los niveles de Interleuquina 17(IL-17)

Al realizar la comparación de los niveles de IL-17 en el FCG entre los grupos control y experimental, vemos que no muestran una diferencia significativa ( $p$  value 0,1630) de los niveles de IL-17, al realizar el test de inmunoensayo al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 9).



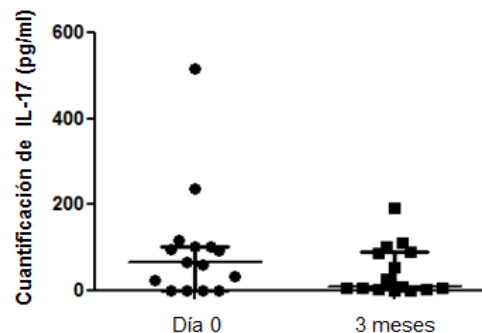
**Figura 9.** Comparación de los niveles de IL-17 en FGC, entre el grupo experimental (probiótico) y control (placebo), cuantificado por ELISA, al comienzo del estudio.

Se puede observar también, que existe una diferencia significativa ( $p$  value 0,0226) al comparar los niveles de IL-17 entre los grupos control y experimental al finalizar la intervención, siendo menor en el grupo experimental (ver Tabla 3 y Figura 10).



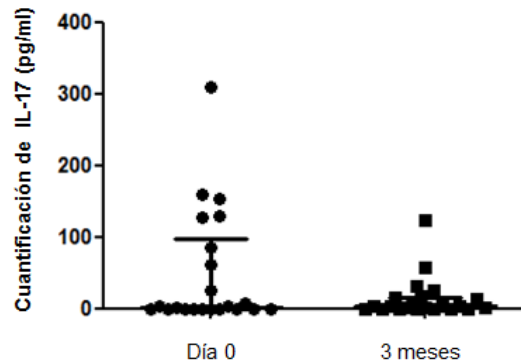
**Figura 10.** Comparación de los niveles de IL-17 en FGC, entre el grupo control (placebo) y experimental (probiótico), cuantificado por ELISA, al finalizar el estudio.

Al evaluar los niveles de IL-17 en el FCG del grupo control, se evidencia una disminución no significativa ( $p$  value 0,4676) de los niveles de IL-17 al tercer mes de uso de placebo, con respecto a los valores obtenidos el comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 11).



**Figura 11. Cuantificación de IL-17 en el grupo Control:** Evaluación de los niveles de IL-17 en el FCG cuantificado por ELISA tanto al día 0, como al finalizar el tratamiento.

Se reporta también, al determinar los niveles de IL-17 en el FCG del grupo experimental, que hay una disminución no significativa ( $p$  value 0,7653) de IL-17 al realizar el test de inmunoensayo al finalizar la intervención, con respecto a los valores obtenidos al comienzo del estudio (ver Tabla 3 y Figura 12).



**Figura 12. Cuantificación de IL-17 en el grupo experimental:** Evaluación de los niveles de IL-17 en el FCG cuantificado por ELISA tanto al día 0, como al finalizar el tratamiento.

## 6. DISCUSIÓN

De acuerdo a la evidencia que actualmente se encuentra disponible en el campo de la periodoncia, este es el primer ensayo clínico que utiliza a la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus SP1* como coadyuvante en el tratamiento periodontal en pacientes con periodontitis crónica para evaluar su eficacia respecto a los parámetros clínicos e inmunológicos. Además, sigue las recomendaciones de una revisión sistemática del año 2013, la cual proponía la necesidad de realizar ensayos clínicos aleatorizados en periodoncia que permitiesen estudiar los efectos de probióticos, con el objetivo de permitir un mejor manejo clínico de la periodontitis y disminuir el uso de terapia antibiótica conjunta (Yanine y cols, 2013).

A nivel de los parámetros clínicos, en este estudio se observó que en los pacientes que eran parte del grupo experimental (probióticos), al finalizar la intervención presentaron una disminución significativa de la profundidad al sondaje (PS), índice de sangrado (IS) y de placa (IP); y un aumento significativo de la recesión gingival, con respecto a los obtenidos en el tiempo basal. En el grupo control al finalizar la intervención se obtuvo sólo una disminución significativa del índice de placa (IP) con respecto a lo obtenido en el tiempo basal.

En relación a los ensayos clínicos que han utilizado probióticos en conjunto con el tratamiento periodontal, los resultados de este estudio son congruentes con la literatura. En estos se ha reportado que existen mejorías estadísticamente significativas de los parámetros clínicos al asociar probióticos con terapia periodontal convencional de pulido y alisado radicular (PAR) al ser comparados con un placebo. Tal es el caso del estudio realizado en 2010 por Vivekanada MR y cols., en el que evaluaron el efecto que presenta el probiótico *L. reuteri* (Prodentis) en el manejo de la enfermedad periodontal. Para esto reclutaron 30 pacientes sistémicamente sanos, con periodontitis crónica. El estudio tuvo una duración de 42 días. Los datos obtenidos de los parámetros clínicos y microbiológicos de cada paciente fueron recopilados a los 0, 21 y 42 días. El día "0" se les realizó un tratamiento periodontal de alisado y pulido radicular (PAR) solo en 2 cuadrantes dejando los otros 2 sin tratar y se les hizo

una instrucción de higiene. A los 21 días se dividió a los individuos en 2 grupos, uno comenzó a ingerir tabletas del probiótico *L. reuteri*, y el otro un placebo, esto hasta el día 42. Los resultados mostraron que tanto el índice de placa, índice gingival e índice de sangrado al sondaje se redujeron significativamente a los 42 días en ambos grupos, sin presentar una diferencia significativa entre ellos. Para la profundidad al sondaje y el nivel de inserción clínica, los mejores resultados los logró el grupo probiótico pero sin ser significativos. Además en el grupo probiótico en todos los cuadrantes (independiente de si fue realizado el PAR o no), se logró la disminución de las bacterias patógenas *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* y *P. gingivalis*, concluyendo que el uso del probiótico *L. reuteri* presenta efectos clínicos y microbiológicos beneficiosos al ser asociado al tratamiento periodontal convencional en pacientes con periodontitis crónica (Vivekanada MR y cols, 2010). Así mismo en 2013, Vicario M y cols., realizaron un ensayo clínico controlado por placebo, el cual incluyó a 20 pacientes sistémicamente sanos y que presentaban periodontitis crónica (de leve a moderada). Estos fueron divididos en 2 grupos de igual número y aleatoriamente, uno de ellos recibió tabletas de *L. reuteri* y el otro un placebo, uno al día por los 30 días que se extendió el estudio. Los parámetros clínicos fueron medidos al comienzo y al final del estudio. Los resultados obtenidos mostraron que el grupo probiótico a los 30 días obtuvo una reducción significativa del índice de placa, sangrado al sondaje y profundidad de saco periodontal, logrando así una clara mejoría en términos clínicos (Vicario M y cols, 2013).

Al discutir los resultados obtenidos de los inmunoensayos (ELISA), se puede observar que los parámetros inmunológicos obtenidos de hBD-3 e IL-8 se condicen con lo que propone la literatura actualmente, pero sin llegar a ser significativos en el caso de la hBD-3 y al comparar ambos grupos en la IL-8.

Al evaluar los resultados obtenidos de la cuantificación de los niveles de hBD-3, se evidencia un aumento no significativo de los niveles de hBD3 en el fluido crevicular gingival (FCG), tanto en los grupos experimental y control, al comparar los niveles obtenidos en el día 0 y a los 3 meses. Además, al realizar la comparación entre los grupos experimental y control en basal y a los 3 meses, no se observa una diferencia significativa. Si bien, los resultados obtenidos de hBD-3

entre los grupos no lograron ser estadísticamente significativos, si se reportó una tendencia positiva al verse un aumento de sus niveles en ambos grupos y un aumento levemente mayor del grupo experimental al comparar los grupos. Estos resultados no fueron significativos debido al acotado tiempo de estudio y número de sujetos de estudio de la muestra, que nos hace pensar que atendiendo dichas observaciones nos permitirían llegar a la significancia estadística.

En el estudio realizado en 2011 por Brancatisano FL. y cols., donde fueron reclutados 31 pacientes sanos y 37 pacientes con periodontitis crónica, todos sistémicamente sanos, se realizó la cuantificación de los niveles de hBD-3 en el FCG de todos los pacientes mediante ELISA. Se obtuvo como resultado un nivel de hBD-3 significativamente más alto en los pacientes sanos, sugiriendo así que en individuos sanos, es producida y liberada por el epitelio gingival en el espacio entre la superficie del diente y el margen gingival. Además, se observó en el grupo con periodontitis, una marcada reducción de los niveles de hBD-3 en la medida que aumenta la severidad de la enfermedad. Así también, reportaron una correlación negativa significativa entre los niveles de hBD-3 en FCG y el número de bacterias periodontopatógenas en el mismo lugar, lo que sugiere que hBD-3 podría estar directa o indirectamente involucrada en la limitación de la colonización de la cavidad oral por especies bacterianas periodontopatógenas, contribuyendo así con el mantenimiento del estado de salud periodontal (Brancatisano FL y cols 2011).

Al evaluar los resultados de la cuantificación de los niveles de IL-8 presentes en el FCG, se puede observar que existe una disminución significativa de sus niveles, tanto de los grupos experimental y control, comparando los niveles obtenidos el día 0 y a los 3 meses. Sin embargo, al realizar la comparación entre los grupos experimental y control de los niveles obtenidos de IL-8 en el día 0 y a los 3 meses, no se evidenció una diferencia significativa entre ellos. En un estudio realizado en 2012, por Konopka L y cols., donde se reclutaron 31 pacientes con periodontitis crónica generalizada avanzada y 20 pacientes sanos, se midieron los parámetros clínicos de índice de placa (IP), índice gingival (IG), profundidad al sondaje (PS) y nivel de inserción clínica (NIC), y mediante ELISA se cuantificaron los niveles presentes en el FCG de interleuquina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), Interleuquina 8 (IL-

8) y Metaloproteinasa 8 (MMP-8), al comienzo del estudio y a 1 y 4 semanas de haber realizado el PAR en el grupo de pacientes con periodontitis crónica. Los resultados obtenidos mostraron una significativa mejoría de los parámetros clínicos (excepto NIC), y mostraron también una marcada disminución de los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-8 y MMP-8 en el FCG, especialmente a las 4 semanas de realizado el PAR en el grupo de pacientes con periodontitis crónica. Sin embargo, los niveles de los marcadores de inflamación, es decir, IL-1 $\beta$ , IL-8 y MMP-8, todavía estaban elevados, por lo que, sugiere que la terapia no quirúrgica a corto plazo genera una mejora en los signos clínicos de la inflamación, pero que los procesos inflamatorios y de destrucción dentro de los tejidos periodontales no se eliminan por completo (Konopka L y cols, 2012).

En un estudio *in vitro* realizado en 2012, fue evaluado el efecto que presentan *P. gingivalis* y el probiótico *L. acidophilus* en la secreción de IL-8, IL-6 e IL-1beta por parte de células del epitelio gingival humano. Para esto se designaron 4 grupos de cultivos celulares a evaluar, en el grupo 1 se cultivó *P. gingivalis* con células de epitelio gingival, en el grupo 2 se cultivó *L. acidophilus* con células de epitelio gingival, en el grupo 3 se realizó un cultivo mixto de *P. gingivalis* con *L. acidophilus* con células de epitelio gingival (fue dividido en 3 subgrupos con 3 concentraciones distintas de *L. acidophilus* para verificar si es dosis dependiente) y el grupo 4 (control) solo fueron cultivadas células de epitelio gingival. Los niveles de interleuquinas fueron determinados mediante ELISA, a las 2, 6 y 24 horas. De acuerdo a los resultados del estudio, en el grupo 3 de cultivo mixto se evidenció una disminución de los niveles de las interleuquinas evaluadas, con una correlación positiva con la concentración de *L. acidophilus* y fueron significativamente diferentes a los obtenidos en el grupo 1 (*P. gingivalis*), concluyendo que el probiótico *L. acidophilus* genera una disminución de la secreción de IL- 8, IL-6 e IL-1 $\beta$  en las células del epitelio gingival en presencia de *P. gingivalis*, de una manera dosis dependiente del probiótico (Zhao J y cols, 2012).

Estos estudios reportan de forma independiente, que tanto el tratamiento periodontal convencional, como el uso de un probiótico generan una marcada disminución de los niveles de IL-8, esto podría sugerir que el uso conjunto podría

traer un efecto beneficioso aún mayor. En el presente estudio obtuvimos una disminución significativa de los niveles de IL-8 en el FCG a los 3 meses en ambos grupos, sin embargo no se evidenció una diferencia significativa entre los grupos control y probiótico al finalizar la intervención. Al no presentarse una diferencia significativa al comparar ambos grupos se presenta la inquietud de si efectivamente la bacteria probiótica genera un efecto beneficioso mayor como coadyuvante del tratamiento periodontal, esto debido a que existe evidencia que sustenta el hecho de que el tratamiento periodontal convencional es capaz de reducir los niveles de IL-8 en el FCG, como fue descrito en el estudio de Konopka L y cols, 2012.

Con respecto a la IL-17, al observar los resultados obtenidos en este estudio, vemos que hubo una disminución no significativa de sus niveles en el FCG tanto en los grupos experimental y control, al comparar la cuantificación de sus niveles en el día 0 y a los 3 meses. Sin embargo, al realizar la comparación de los niveles de IL-17, entre los grupos experimental y control a los 3 meses, se puede observar una diferencia significativa de sus niveles, siendo menor en los pacientes del grupo experimental. Al discutir los resultados obtenidos del inmunoensayo (ELISA) de los niveles de IL-17, se puede observar que se condicen con lo que propone la evidencia actual, la cual sugiere que el uso de probióticos logra generar modulación inmune generando una significativa disminución de los niveles de IL-17 del FCG y una consecuente disminución de la inflamación y de la destrucción de tejido periodontal.

En el estudio realizado por Szkaradkiewicz A.y cols., en 2014 fueron reclutados 38 pacientes adultos que presentaban periodontitis crónica moderada. Se realizó una medición de los parámetros clínicos y se recopiló una muestra del FCG de cada paciente y posteriormente se realizó el tratamiento periodontal convencional (PAR). Los grupos fueron divididos en 2, el primer grupo fue conformado por 24 pacientes que recibieron el probiotico *L. reuteri* y el segundo grupo fue conformado por 14 individuos que recibieron un placebo, se les instruyó en ingerir las tabletas 2 veces por día, durante 2 semanas, y dos semanas posterior al término del consumo de las tabletas fueron recopilados nuevamente los parámetros clínicos e inmunes, los cuales fueron analizados dando como



resultado una mejoría significativa de los parámetros clínicos de los pacientes del grupo probiótico (índice de sangrado, profundidad al sondaje y nivel de inserción clínica) y a nivel inmune el 75% de los individuos del grupo probiótico (18 individuos) presentaron una disminución significativa de los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y IL-17, llegando a la conclusión de que la cepa probiótica de *L. reuteri* induce una disminución en la respuesta de citoquinas proinflamatorias en la periodontitis crónica. Así también, en el estudio realizado en 2011, por Zhao L y cols., fueron reclutados 30 pacientes que presentaban periodontitis crónica a los que se les midieron sus parámetros clínicos e inmunológicos del FCG, posterior a eso se les realizó el tratamiento periodontal (PAR) y 6 semanas después se volvieron a recopilar las muestras y mediante ELISA se realizó la cuantificación de los niveles de citoquinas pro inflamatorias presentes en el FCG y se realizó también un análisis de células Th-17 mediante citometría de flujo. Los resultados que obtuvieron mostraron una marcada disminución de las citoquinas proinflamatorias IL-17 y IL-21 en el FCG a las 6 semanas de realizado el tratamiento periodontal convencional y el número de células Th17 se vio significativamente disminuido al finalizar el estudio, sugiriendo que juegan un papel destructivo en el equilibrio inmunológico de la periodontitis.

La evidencia respalda el hecho de que IL-17 es una citoquina proinflamatoria clave en la destrucción tisular en la periodontitis. En diversos estudios se ha reportado que el efecto de la IL-17 en la inflamación local podría deberse a sus efectos inductores celulares para la secreción de otros mediadores pro inflamatorios, el reclutamiento de PMNN y la destrucción de tejido óseo (Christopher MJ. 2007; Vernal y García-Sanz JA, 2008). Los resultados de un estudio realizado en 2009, respaldan la evidencia actual que sugiere la actividad pro inflamatoria de la IL-17, al reportar que sus niveles en FCG fueron significativamente mayores en pacientes con periodontitis crónica, resultados que habían sido reportados previamente en 2005 por Vernal y cols. Observaron también en ese estudio, la presencia de células Th17 en el tejido gingival y niveles elevados de mRNA de IL-17 en la encía y el hueso alveolar de pacientes con periodontitis crónica, lo que fue confirmado por inmunofluorescencia y PCR en tiempo real, respectivamente (Cardoso y cols., 2009).

Al comparar la evidencia que existe al respecto y los resultados de este estudio, se puede observar claramente que el uso de la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus SP1*, como coadyuvante del tratamiento periodontal convencional, es capaz de generar una disminución significativa de los niveles de IL-17, y por ende, una disminución en la destrucción del tejido periodontal y reabsorción ósea, procesos que son inducidos por la actividad de la IL-17, como ya ha sido descrito, y que determinan la severidad y progresión de la periodontitis crónica.

El presente estudio permite respaldar la evidencia que existe actualmente, aunque limitada, que sustenta la efectividad de las bacterias probióticas a nivel oral y específicamente a nivel periodontal. Es importante considerar, que en este ensayo existen ciertas limitaciones. La primera, es el tamaño muestral que fue menor al que sugiere la evidencia para asegurar su representatividad, pero que no se consideró completamente para poder realizar este estudio de resultados preliminares, y lo segundo es el corto período de seguimiento que involucró el estudio. Sin embargo los resultados obtenidos que no fueron significativos muestran aun así, una clara tendencia que permite apoyar la idea de que *L. rhamnosus SP1* sí puede generar mejorías clínicas e inmunes como coadyuvante del tratamiento periodontal en pacientes con periodontitis crónica, por lo que se sugiere a futuro realizar estudios que puedan realizarse en un período de tiempo mayor, además de que cuenten con una muestra de mayor tamaño, que puedan evaluar a nivel microbiológico los efectos de esta cepa probiótica y que puedan evaluar el efecto de otras interleuquinas y mediadores involucrados en la periodontitis. De esta misma forma es importante que puedan ser evaluados los efectos de otras cepas probióticas, con tal de aumentar la evidencia que existe actualmente respecto a los probióticos y permita determinar qué probiótico es más efectivo para una enfermedad determinada, en qué dosis y durante cuánto tiempo.

## 7. CONCLUSIONES

Los pacientes que participaron en el estudio y que pertenecían al grupo experimental, presentaron una significativa mejoría de los parámetros clínicos de profundidad al sondaje, índice de sangrado, índice de placa y posición de encía, atribuibles al tratamiento periodontal convencional combinado con el consumo diario de *Lactobacillus rhamnosus SP1*.

Al comparar las mediciones de los niveles de Interleuquina 17 en el FCG a los 3 meses, de los grupos control y experimental, se evidenció una significativa diferencia siendo menor sus niveles en el grupo experimental, lo que se traduce en una mejoría a nivel inmunológico atribuible al tratamiento periodontal convencional combinado con el consumo diario de *Lactobacillus rhamnosus SP1*.

En conclusión, el presente estudio clínico sugiere que el tratamiento periodontal convencional de pulido y alisado radicular en combinación con la administración oral de la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus SP1*, genera mejorías estadísticamente significativas en los parámetros inmunológicos de pacientes con periodontitis crónica, al ser comparados con un placebo.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas A, Lichtman A, Pillai S (2008). Inmunología celular y molecular. 6ta Edición. Editorial Elsevier.

Akgul C, Moulding DA, Edwards SW. Molecular control of neutrophil apoptosis. FEBS Lett. 2001 Jan 5; 487(3):318-22.

Azuma M. Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. Journal of Periodontal Research 2006, 41: 361–373.

Brancatisano FL, Maisetta G, Barsotti F, Esin S, Miceli M, Gabriele M y cols. Reduced human beta defensin 3 in individual with periodontal disease. J Dent Res 2011; 90(2):241-245.

Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics role on oral health. Oral Diseases, 2005; 11: 131-137.

Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekei G. Oral colonization by Lactobacillus reuteri ATCC 55730 after exposure to probiotics. International Journal of Paediatric dentistry 2009; 19, 377-381.

Camacho-Sandoval J. Tamaño de muestra en estudios clínicos. AMC. 2008; 50(1):20-21.

Cardoso CR, Garlet GP, Crippa GE, Rosa AL, Junior WM, Rossi MA, et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. Oral Microbiol Immunol 2009; 24:1-6

Christopher MJ, Link DC. Regulation of neutrophil homeostasis. Curr Opin Hematol. 2007; 14(1):3-8.

Cruz E., Ramirez J., Contreras A. La moxifloxacin como coadyuvante en el tratamiento de las periodontitis. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral.* 2014; 7(3): 200-208.

Daniels RH, Finnen MJ, Hill ME, Lackie JM. Recombinant human monocyte IL-8 primes NADPH-oxidase and phospholipase A2 activation in human neutrophils. *Immunology.* 1992 Jan; 75(1):157-63.

Dhople V, Krukemeyer A, Ramamoorthy A. The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions. *BiochimBiophysActa.* 2006;1758(9):1499-512.

Dunsche A, Acil Y, Dommisch H, Siebert R, Schroder JM, Jepsen S. The novel human beta-defensin-3 is widely expressed in oral tissues. *Eur J Oral Sci.* 2002 Apr; 110(2):121-4.

Dutzan N, Vernal R, Vaque J, García J, Hernandez M, Abusleme L, Dezerega A, Gutkind J, Gamonal J. Interleukin-21 expression and its association with pro-inflammatory cytokines in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodontol,* 2011; 82(10): 1483-1489.

FAO/WHO. Report of joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 2001; Córdoba, Argentina.

Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003 Sep; 3(9):710-20.

Gomes Pde S, Fernandes MH. Defensins in the oral cavity: distribution and biological role. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(1):1-9.

Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. Isolation and characterization of human beta - defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem.* 2001;276(8):5707-13.

Hatakka K, Ahola A, Yli-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Suomalainen T, Meurman JH, Korpela R. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly--a randomized controlled trial. *J Dent Res.* 2007 Feb; 86(2):125-30.

Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuo J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol*, 2008; 23: 336-334.

Herrera D., Alonso B., Leon R., Roldan S., Sanz M.. Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol.* 2008; 35:45-66.

İnce G, Gürsoy H, İpçi ŞD, Cakar G, Emekli-Alturfan E, Yılmaz S. Clinical and Biochemical Evaluation of Lozenges Containing *Lactobacillus reuteri* as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy in Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2015 Jun; 86(6):746-54.

Ito H, Honda T, Oda T et al. Gene expression analysis of the CD4+ T cell clones derived from gingival tissues of periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*, 2005; 20: 382-386.

Khani S, Hosseini HM, Taheri M, Nourani MR, Imani Fooladi AA. Probiotics as an alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: a review. *Inflammation and allergy drug targets* 2012; 11(2), 79-89.

Konopka L, Brzezinska- Blaszczyk E. Effect of scaling and root planing on interleukin- 1b, interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Periodontol.* 2012; Res 47:681-688.

Lockhart E, Green AM, Flynn JL. IL-17 production is dominated by gamma delta T cells rather than CD4 T cells during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol.* 2006 Oct 1; 177(7): 4662-4669.

Lu Q, Jin L, Darveau RP, Samaranayake LP. Expression of human  $\beta$  - defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2004; 39:221-227.

Lu Q, Samaranayake LP, Darveau RP, Jin L. Expression of human beta-defensin-3 in gingival epithelia. *J Periodontal Res.* 2005 Dec; 40(6):474-81.

Matsushima K, Baldwin ET, Mukaida N. Interleukin-8 and MCAF: novel leukocyte recruitment and activating cytokines. *Chem Immunol.* 1992; 51:236-65.

Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y, Shimauchi H. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a doubleblinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 2009; 36: 506-513.

Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci*, 2005; 113: 188-196.

Nakajima T, Ueki-Maruyama K, Oda T et al. Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. *J Dent Res*, 2005; 84(7): 639-643.

Ohyama H, Kato-Kogoe N, Kuhara A et al. The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. *J Dent Res.* 2009; 88: 633-638.

Quirynen M, Teughels W, De Soete M, Van Steenberghe D. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontol* 2000, 2002; 28: 72-90.

Rhemrev GE, Timmerman MF, Veldkamp I, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. Immediate effect of instrumentation on the subgingival microflora in Deep inflamed pockets under strict plaque control. *J Clin Periodontol* 2006; 33:42-48.

Sahasrabudhe KS, Kimball JR, Morton TH, Weinberg A, Dale BA. Expression of the antimicrobial peptide, human beta-defensin 1, in duct cells of minor salivary glands and detection in saliva. *J Dent Res.* 2000;79(9):1669-74.

Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, Hirata H. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebocontrolled study. *J Clin Periodontol*, 2008; 35: 897-905.

Smith WB, Gamble JR, Clark-Lewis I, Vadas MA. Chemotactic desensitization of neutrophils demonstrates interleukin-8 (IL-8)-dependent and IL-8-independent mechanisms of transmigration through cytokine-activated endothelium. *Immunology.* 1993 Mar; 78(3):491-7.

Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, 1992; 63(4): 322-331.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr. RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 1998; 25: 134-144.

Stamatova I, Meurman J. Probiotics and periodontal disease. *Periodontol* 2000, 2009; 51: 141-151.



Szkaradkiewicz AK., Stopa J., Karpiński TM. Effect of Oral Administration Involving a Probiotic Strain of *Lactobacillus reuteri* on Pro-Inflammatory Cytokine Response in Patients with Chronic Periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2014; 62(6):495-500.

Takahashi, K., Azuma, T., Motohira, H., Kinane, D. F. and Kitetsu, S. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32: 369–374

Teanpaisan R, Dahlén G. Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Apr;21(2):79-83.

Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol* 2011; 53: 452-459.

Tekce M, Ince G, Gursoy H, Dirikan Ipci S, Cakar G, Kadir T, Yılmaz S. Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of chronic periodontitis: a 1-year follow-up study. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr; 42(4):363-72.

Teughels W, Newman MG, Coucke W, Haffajee AD, Van Der Mei HC, Kinder Haake S, Schepers E. Guiding periodontal pocket recolonization: a proof of concept. *J Dent Res*, 2007; 86(11): 1078-1082.

Teughels W, Loozen G, Quirynen M. Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota. *Journal of clinical periodontology* 2011; 38 (supl. 11), 159-177

Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of

chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*, 2013; 40: 1025–1035.

Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2008 Nov;14(11):1585-96.

Van der Weijden G.A., Timmerman M.F. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002; 29:55-71.

Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U, de Graff J. Microbial succession in recolonizing Deep periodontal pockets after a single course of supra- and subgingival debridement. *J Clin Periodontol* 1998; 15: 116-122.

Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Valenzuela MA and Gamonal J. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 (4) 383-389.

Vernal R y García-Sanz JA. Th17 and Treg cells, two new lymphocyte subpopulations with a role in the immune response against infection. *Infect Disord Drug Targets* 2008; 8(4):207-220.

Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L. Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. *Acta Odontol Scand* 2013; 71(3-4):813-819.

Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG. Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J Oral Microbiol* 2010; 2:5344-5352.

Wei H, Loimaranta V, Tenovuo J. Stability and activity of specific antibodies against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* strain GG or treated at ultra-high temperature. *Oral Microbiol Immunol*, 2002; 17: 9-15.

Wu Z, Ericksen B, Tucker K, Lubkowski J, Lu W. Synthesis and characterization of human alphadefensins 4-6. *J Pept Res*. 2004;64(3):118-25.

Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Som S, Thompson M, Torresyap G, Socransky SS. The effect of repeated profesional supragingival plaque removal on the composition of the supra and subgingival microbiota. *Journal of clinical periodontology* 2000; 27, 637-647.

Yanine N, Araya I, Brignardello-Petersen R, Carrasco-Labra A, González A, Preciado A, Villanueva J, Sanz M, Martin C. Effects of probiotics in periodontal diseases: a systematic review. *Clinical Oral Investigation*. 2013; 17(7):1627-34.

Yli-Knuuttila H, Snall J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*. 2006; 21:129–31.

Zandbergen D, Slot DE, Cobb CM, Van Der weijden FA. The clinical effect of scaling and root planning and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole a systematic review. *J Periodontol*. 2013; 84:332-51.

Zhao JJ, Feng XP, Zhang XL, Le KY. Effect of *Porphyromonas gingivalis* and *Lactobacillus acidophilus* on secretion of IL1B, IL6, and IL8 by gingival epithelial cells. *Inflammation*. 2012 Aug;35(4):1330-7.

Zhao L, Zhou Y, Xu Y, Sun Y, Li L, Chen W. Effect of non surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2011; 38:509-516.

## 9. ANEXOS

### 9.1. Anexo 1: Formulario de hábitos alimenticios

#### FORMULARIO DE HÁBITOS ALIMENTICIOS

Instrucciones:

Mire con detención las imágenes de los productos seleccionados. Identifique cuál de ellos ha consumido los últimos 3 meses. No considere el sabor.

#### 1. PRODUCTOS NESTLÉ

1.1 	1.2 	1.3 
1.4 	1.5 	1.6 

#### 2. PRODUCTOS SOPROLE

2.1 	2.2 	2.3 
2.4 	2.5 	2.6 
2.7 	2.8 	2.9 

3. PRODUCTOS LONCOLECHE

<p>3.1</p> 	<p>3.2</p> 	<p>3.3</p> 
<p>3.4</p> 	<p>3.5</p> 	<p>3.6</p> 
<p>3.7</p> 	<p>3.8</p> 	<p>3.9</p> 

4. PRODUCTOS DANONE

<p>4.1</p> 	<p>4.2</p> 	<p>4.3</p> 
<p>4.4</p> 	<p>4.5</p> 	<p>4.6</p> 
<p>4.7</p> 	<p>4.8</p> 	<p>4.9</p> 

## 5. PRODUCTOS COLUN

5.1 	5.2 	5.3 
5.4 	5.5 	5.6 
5.7 	5.8 	5.9 

## 6. PRODUCTOS QUILLAYES

6.1 	6.2 	6.3 
6.4 	6.5 	6.6 

## 7. PRODUCTOS SURLAT



## 8. PRODUCTOS CALO



**FORMULARIO DE HÁBITOS ALIMENTICIOS**

NOMBRE: \_\_\_\_\_

1. USTED HA CONSUMIDO ALGÚN PRODUCTO CON PROBIÓTICO?: \_\_\_\_\_

2. CUÁL?: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:**

Mire con detención las imágenes de los productos seleccionados.

Marque con una cruz el o los productos que ha consumido durante los últimos 3 meses

## 1. PRODUCTOS DANONE

1.1	1.2	1.3
1.4	1.5	1.6

## 2. PRODUCTOS SOPROLE:

2.1	2.2	2.3
2.4	2.5	2.6
2.7	2.8	2.9

## 3. PRODUCTOS LONCOLECHE

3.1	3.2	3.3
3.4	3.5	3.6
3.7	3.8	3.9

## 4. PRODUCTOS DANONE

4.1	4.2	4.3
4.4	4.5	4.6
4.7	4.8	4.9

## 5. PRODUCTOS COLUN

5.1	5.2	5.3
5.4	5.5	5.6
5.7	5.8	5.9

## 6. PRODUCTOS QUILLAYES

6.1	6.2	6.3
6.4	6.5	6.6

## 7. PRODUCTOS SURLAT

7.1	7.2	7.3
7.4	7.5	7.6

## 8. PRODUCTOS CALO

8.1	8.2	8.3
-----	-----	-----



## 9.2. Anexo 2: Sondeo Inicial. Reclutamiento de pacientes

<p>Día    Mes    Año</p> <table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> </table>							<p>Número de Ingreso</p> <table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> </table>						
<p><b>INFORMACIÓN GENERAL</b></p> <p>Nombre: .....</p>	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 80%;">Enfermedad Sistémica</td> <td style="width: 5%;"><b>SI</b></td> <td style="width: 15%;"><b>NO</b></td> </tr> <tr> <td>Tratamiento Periodontal Previo</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Embarazo</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Polimedicamentos</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Enfermedad Sistémica	<b>SI</b>	<b>NO</b>	Tratamiento Periodontal Previo			Embarazo			Polimedicamentos		
Enfermedad Sistémica	<b>SI</b>	<b>NO</b>											
Tratamiento Periodontal Previo													
Embarazo													
Polimedicamentos													

**LAS EDADES A BUSCAR SON para adolescentes entre 16 y 24 años y adultos mayores a 35 años**

Edad en Años 



      Sexo    **0** mujer

**1** hombre

Teléfono    C. Área 



 - Número

CONTAR NÚMERO DE DIENTES EN BOCA

**Si tiene ≥ 14 dientes y al menos 10 son posteriores CONTINUAR**

EPB	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 33%;">S1</td> <td style="width: 33%;">S2</td> <td style="width: 33%;">S3</td> </tr> <tr> <td>S6</td> <td>S5</td> <td>S4</td> </tr> </table>	S1	S2	S3	S6	S5	S4	<p><b>Si EPB &lt;3 (PS≤3mm) →</b> IG</p> <p><b>Si EPB &gt;3 (PS&gt;4mm) ↓</b></p>	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 33%;">16 V</td> <td style="width: 33%;">11V</td> <td style="width: 33%;">26 V</td> </tr> <tr> <td>46 L</td> <td>31 V</td> <td>36 L</td> </tr> </table>	16 V	11V	26 V	46 L	31 V	36 L	<table border="1" style="width: 100%; height: 60px;"> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">Promedio</td> </tr> </table>	Promedio
S1	S2	S3															
S6	S5	S4															
16 V	11V	26 V															
46 L	31 V	36 L															
Promedio																	

Profundidades al Sondaje, Buscar al menos 5 dientes ≥ 5 mm y CAL ≥ 3mm

17	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	26	7
47	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	36	7
	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5			

**Si cumple este criterio pasar a sangrado**  
 Debe tener > 20% de sitios con sangrado

**Examinar 6 sitios por diente**

**SANGRADO**

cantidad de dientes Presentes	número mínimo de sitios con sangrado al sondaje para cumplir criterio	SI	NO
14	17		
15	19		
16	20		
17	21		
18	22		
19	23		
20	25		
21	26		
22	27		
23	28		
24	29		
25	30		
26	32		
27	33		
28	34		



**Cumple Con Criterio de  
Inclusión**

SI	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>

**Si cumple  
Clasificar**

	JOVEN	ADULTO
SANO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
GINGIVITIS	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
PERIODONTITIS	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>







. ortodoncia:

No: 0

Si: 1

3

. Uso de piercing en labios o lengua:

No: 0

Si: 1

Ubicación

.....

.....

4

. Biotipo de encía

Fino: 1

Grueso: 2

## 9.4. Anexo 4: Aprobación de comité de Ética



12/09/2012

### ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

---

ACTA N°: 2012/08

1. Acta de aprobación de protocolo de estudio N° 2012/11
2. Miembros permanentes del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:

**Dr. Juan Cortés**  
Presidente del CEC

**Dr. Eduardo Rodríguez**  
Miembro permanente del CEC

**Dra. Karin Lagos**  
Miembro permanente del CEC

**Dr. Alejandro Escobar**  
Miembro permanente del CEC

3. **Fecha de Aprobación:** 12/09/2012
4. **Título completo del proyecto:** "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id\_12566-3-1. Versión 04/07/2012
5. **Investigador responsable:** Dr. Jorge Gamonal Aravena, académico del Departamento de Odontología Conservadora Facultad de Odontología, Universidad de Chile
6. **Institución:** Facultad de Odontología, Universidad de Chile y Fondecyt
7. **Documentación Revisada:**
  - Protocolo versión en inglés del Proyecto: "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id\_12566-3-1. Versión 04/07/2012
  - Documentos de Consentimiento informado para Pacientes adultos, para padres de adolescentes y Asentimiento informado versión 12/09/2012
  - Currículo del investigador responsable y de Coinvestigadores



12/09/2012

## ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

**8. Carácter del estudio y de la muestra:** Ensayo Clínico Aleatorizado en doble ciego con uso de placebo. Se compararán dos tipos de tratamiento para la enfermedad periodontal en una población de adultos y de adolescentes.


**9. Fundamentación de la aprobación ética**

Este proyecto busca probar, basándose en el análisis de la microbiota oral, que un tratamiento para la enfermedad periodontal combinado con probióticos es mejor que los tratamientos estándares.

Los investigadores han incorporado en los documentos de consentimiento y asentimiento informado las siguientes modificaciones sugeridas por este Comité:

- La Modalidad de Notificación de efectos adversos.
- Un punto que señala que si los pacientes con periodontitis del grupo experimental no logran mejoría -como los pacientes del grupo control- serán tratados nuevamente sin costo asociado.

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, aprueba el estudio "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id\_12566-3-1, Versión 04 de Julio de 2012.

  
**María Angélica Torres V**  
**DDS, MSc, PhD**  
 Presidente (S) del CEC



C/C.

Investigador Responsable

Secretaría C.E.C.



## 9.5. Anexo 5: Consentimiento informado



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Odontología – Departamento de Odontología  
Conservadora

Facultad de Odontología  
Universidad de Chile

Proyecto de Investigación  
Académico Responsable: Jorge Gamonal

### Consentimiento Informado – Adultos

#### Antecedentes Generales

Usted ha sido invitado a participar voluntariamente en un estudio titulado "Control biológico en las enfermedades periodontales: conociendo la variabilidad de la respuesta microbioma/inmune y la implementación de un tratamiento periodontal convencional mas probióticos.". Estas enfermedad periodontales (gingivitis y periodontitis) corresponde a una infección de los tejidos alrededor del diente y con el tiempo y sin tratamiento puede generar una lesión destructiva en los tejidos que rodean la raíz del diente. El tratamiento de estas lesiones es la eliminación de la placa bacteriana acumulada alrededor del diente, con el objetivo de eliminar la infección y evitar las complicaciones asociadas a esta enfermedad.

En términos generales, el objetivo del presente estudio es caracterizar la presencia de las bacterias localizadas alrededor del diente y conocer la presencia de algunos indicadores de la respuesta defensiva del sujeto, como la detección de ciertos mediadores inflamatorios (citoquinas y defensinas).

Con este fin se incluirán adultos con periodontitis crónica (enfermedad en estudio) y otros adultos sanos, en los que además del tratamiento periodontal de eliminar la placa bacteriana, el tártaro presente y efectuar la enseñanza de técnica de cepillado, se procederá a tomar muestras biológicas de la placa bacteriana y del fluido gingival crevicular.

Este formulario será explicado por el investigador y se entregará a los participantes para su lectura. El participante podrá retirarse del estudio en cualquier momento que lo desee y sus datos serán eliminados a partir de ese momento.

#### Procedimiento toma de las muestras

Se incluirán pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica y controles sin la enfermedad, que no presenten enfermedades generales. Una vez realizado el diagnóstico se tomarán las muestras biológicas (mediante un cono de papel y una tira de papel absorbente en el surco gingival) al inicio del estudio, luego a los 6 y 12 meses.

Durante el tratamiento en forma aleatoria se designara que grupo de pacientes estará usando probióticos durante 6 meses y que grupo de pacientes estara sin usar probióticos.

La duración del estudio será por tanto de un año en pacientes que se realicen tratamiento periodontal. El financiamiento del tratamiento será responsabilidad del estudio, y los análisis de muestras serán financiados por el proyecto, así como el estudio radiográfico requerido para éste.

El total de muestras y datos obtenidos serán registrados e identificados por el investigador responsable mediante códigos para su utilización exclusiva en el desarrollo del presente estudio. Los datos personales e identificación de los sujetos participantes serán confidenciales y se utilizarán códigos para mantener oculta la identidad de los participantes. En caso de manifestar interés en los resultados de los análisis efectuados, los interesados pueden acceder a esta información solicitándola al investigador responsable. Los sujetos participantes pueden retirarse del estudio en cualquier momento que estimen conveniente, sin

