



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA CONSERVADORA**

**"CAMBIOS EN LOS NIVELES DE INTERLEUQUINA-8, INTERLEUQUINA-17 Y
BETA DEFENSINAS-3 ASOCIADOS AL USO DE PROBIÓTICOS EN UN
TRATAMIENTO CONVENCIONAL NO QUIRÚRGICO EN PACIENTES CON
PERIODONTITIS CRÓNICA."**

Rafael Ignacio Contador Cotroneo

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Jorge Gamonal Aravena

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dra. Paola Carvajal Pavez

Dra. Alicia Morales Chvets

**Adscrito a Proyecto Fondecyt 1130570
Santiago – Chile
2016**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA**

**"CAMBIOS EN LOS NIVELES DE INTERLEUQUINA-8, INTERLEUQUINA-17 Y
BETA DEFENSINAS-3 ASOCIADOS AL USO DE PROBIÓTICOS EN UN
TRATAMIENTO CONVENCIONAL NO QUIRÚRGICO EN PACIENTES CON
PERIODONTITIS CRÓNICA."**

Rafael Ignacio Contador Cotroneo

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Jorge Gamonal Aravena

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dra. Paola Carvajal Pavez

Dra. Alicia Morales Chvets

**Adscrito a Proyecto Fondecyt 1130570
Santiago – Chile
2016**

*“Los dos guerreros más poderosos con los que se puede contar son
la paciencia y el tiempo”
Lev Tolstói.*

Agradecimientos

A mi madre y mi hermana, por su amor y apoyo incondicional siempre, por escucharme cada día con las historias de la universidad y enseñarme a no sentirme derrotado por los malos momentos. Por ser un gran pilar en mi vida y que sin ellas, jamás podría haber cumplido esta etapa.

A mi Tata Sergio y abuela Silvia, por ser otro pilar más en mi familia, por sus besos, cariños y abrazos. Por darme tanto amor siempre.

A mi Javi, por su amor, paciencia y compañía incondicional a cada momento.

A mi papá por el afecto entregado, por darme ánimos en cada momento, por apoyarme y dejarse atender por mí, viniendo durante más de un año a acompañarme a la clínica.

A mi Tata Renato y abuela Ceci, por el esfuerzo de estar conmigo siempre en mi vida.

A la Meme, que desde arriba me guía con su consejo.

A mis tíos, primos y familia completa, por los momentos alegres que me han hecho pasar.

A mis amigos de la vida, Roberto, Sebastián, Rodrigo y Matías por la amistad de todos estos años.

A mis amigos de la U, Lucho, Panchita, Mane, Caro, Bego, Fran, Gab, Pancho, Seba Vásquez, Cesar, Amaru, Gustavo, Jime, Nati, Atty, Andre, Báez, Mati Cisternas, Vale, Dani, Flo, Cota, Anita, Max, Diego Inda, Diego Vergara, Pipe, Gabi, Nao, Alonso, Nico, Joaco's, Seba Díaz, Sergio, Mati Dallaserra, Valerio, y los que se me han quedado en carpeta.

A las personas increíbles que conocí en la Universidad, a los docentes y personas que me ayudaron a crecer como individuo y futuro profesional, Dra. Claudia Lefimil, Prof. Nora Silva, Dr. Gonzalo Rodríguez, Dr. Rodrigo Cabello, Dr. Mario Díaz, Dr. Juan Pablo Aitken, Dr. Danilo Ocaranza, Dr. Arnoldo Hernández, Dra. Andrea Pizarro, Dra. Gloria Xaus, Dra. Claudia Sommariva, Dra. Alexandra Angulo, Dra. María Consuelo Fresno, Dr. Matías San Martín, Dr. Luis Araneda, Florcita María, entre muchos otros.

Agradecimientos al equipo de tesis, Dra Alicia Morales por su paciencia al explicarme paso a paso como seguir con el estudio, a Jocelyn García por su tiempo y dedicación, a Carolina Galaz por estar siempre, a Dra. Paola Carvajal por sus correcciones y al Dr. Jorge Gamonal por darme la oportunidad de participar en esto y entregarme consejos durante el fin de mi carrera. Gracias al proyecto Fondecyt 1130570 con el cual pudimos llevar a cabo esta investigación.

A todos les agradezco por ayudarme a estar donde me encuentro y por todo lo que he podido lograr durante mi vida.

ÍNDICE

RESUMEN	7
MARCO TEÓRICO	8
- PERIODONTITIS CRÓNICA	8
- EPIDEMIOLOGÍA DE LA PERIODONTITIS CRÓNICA	9
- ETIOPATOGENIA DE LA PERIODONTITIS CRÓNICA	9
- RESPUESTA INMUNE DE LA PERIODONTITIS CRÓNICA	10
- TERAPIA PERIODONTAL	13
- TERAPIA CON PROBIÓTICOS	15
- RELEVANCIA DEL PROBLEMA	18
HIPÓTESIS	20
OBJETIVOS	20
METODOLOGÍA	21
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIÓN	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	49
- ANEXO 1	49
- ANEXO 2	55
- ANEXO 3	57
- ANEXO 4	61
- ANEXO 5	63

RESUMEN

Introducción: La Periodontitis Crónica es un problema de salud pública y la segunda causa de pérdida dentaria en Chile. La interacción entre las bacterias y el hospedero en la interfaz de la biopelícula y el periodonto gatillan la síntesis de citoquinas que inducen alteraciones del tejido conjuntivo y la destrucción del soporte óseo dentario. El uso de probióticos podría ofrecer una terapia complementaria a la terapia periodontal no quirúrgica, ayudando al desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento en pacientes con enfermedad periodontal.

Objetivo: Evaluar el efecto de la administración de *Lactobacillus rhamnosus* SP1 en pacientes con Periodontitis Crónica tratados con terapia periodontal no quirúrgica en los parámetros clínicos periodontales asociados a los niveles de Interleuquina-8 (IL-8), Interleuquina-17 (IL-17) y Betadefensina-3 (hBD-3) presentes en el fluido gingival crevicular (FGC), en comparación con un placebo.

Metodología: Ensayo clínico aleatorizado, doble enmascarado, placebo-controlado. Veintiocho pacientes con Periodontitis Crónica fueron divididos en 2 grupos. Cada paciente fue tratado con raspado y alisado radicular (RAR), un grupo recibió una disolución oral con probiótico y el otro un placebo. Se midieron niveles de IL-8, IL-17 y hBD-3 en FGC. Se registró profundidad al sondaje (PS), nivel de inserción clínico (NIC), índice de placa (IP) y sangrado al sondaje (SS). Se evaluó al iniciar y al finalizar la intervención.

Resultados: Al finalizar la intervención, en el grupo probiótico y placebo se observó una disminución significativa de PS, IP e IL-8 al comparar los niveles al inicio y a los 3 meses. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos al finalizar la intervención.

Conclusiones: La administración adjunta de *Lactobacillus rhamnosus* SP1 a la terapia periodontal no quirúrgica en pacientes con periodontitis crónica no genera un beneficio adicional al RAR.

MARCO TEÓRICO

Periodontitis Crónica

La boca, como todas las superficies externas del cuerpo y el intestino, tiene una microbiota sustancial que vive en simbiosis con un hospedero sano. La microbiota oral contiene cientos de especies de bacterias aerobias y anaerobias. Estos organismos crecen en las superficies dentales como colonias complejas, mezcladas e interdependientes en biopelículas que se adhieren densamente al diente en el cemento de la raíz y con formas más móviles desde el límite amelocementario hacia coronal (Listgarten MA, 1976).

Entre las enfermedades de la cavidad oral, unas de las más comunes son las enfermedades periodontales. Éstas incluyen un variado grupo de patologías, dentro de las cuales las más prevalentes son la gingivitis y la periodontitis asociada a placa. Las periodontitis se caracterizan por destrucción de los tejidos de inserción del diente con manifestación clínica de pérdida de inserción dentaria y presencia de saco periodontal (Armitage GC, 1999), además de reabsorción de hueso alveolar (Van der Velden U et al., 2005). Para determinar el diagnóstico de periodontitis, el gold standard es la pesquisa de pérdida de nivel de inserción clínica (NIC) (Goodson JM et al, 1992).

La periodontitis crónica es más prevalente en adultos, aunque en algunas ocasiones se podría presentar en todas las edades, en dentición temporal o definitiva. Existe una relación entre la destrucción del tejido y la presencia de placa bacteriana asociada, como también es frecuente que se observe tártaro subgingival. Se relaciona a un patrón microbiano variable y su tasa de progresión es de lenta a moderada, pudiendo tener además períodos de mayor progresión. También puede estar asociada a factores locales y puede ser modificada por enfermedades sistémicas como diabetes y SIDA, y a otros factores como el stress y el tabaco (American Academy of Periodontology, 2000a).

Epidemiología de la Periodontitis Crónica

En términos de prevalencia, la periodontitis es la segunda enfermedad oral, precedida por la caries dental no tratada, en dientes permanentes (Marcenes W et al., 2013).

La periodontitis crónica constituye la segunda causa de pérdida de dientes en la población adulta chilena (Gamonal J et al., 1998), tiene un impacto negativo en la calidad de vida de la población (Espinoza I et al, 2013) y un alto costo económico asociado al tratamiento de la enfermedad (Gamonal J et al, 1998). Un estudio de Gamonal J. y colaboradores concluyen que en Chile, un total de 93,45% de los adultos jóvenes (35-44 años) y un 97,58% de los adultos mayores (65-74 años) tenían ≥ 1 sitio periodontal con pérdida de NIC > 3 mm, con un promedio de 6,5 y 15,8 dientes perdidos, respectivamente. El número de sitios con pérdida de NIC severa ≥ 6 mm fue de 38,65% en los adultos jóvenes y de 69,35% en los adultos mayores. La pérdida de NIC fue significativamente mayor en hombres que en mujeres. Análisis multivariados identificaron que los principales indicadores de riesgo de pérdida de NIC > 6 mm en ≥ 1 sitio fueron: edad (65 a 74 años), género (masculino), el bajo nivel de educación (< 12 años de educación) y el tabaquismo (Gamonal J et al., 2010).

Etiopatogenia de la Periodontitis Crónica

La periodontitis es una consecuencia de los cambios en la estructura de las comunidades microbianas residentes, impulsados por una interacción entre los microorganismos, los hábitos y el sistema inmune del hospedero (Marsh PD, 2003). Un pequeño número de especies bacterianas en el biofilm subgingival han sido asociadas con periodontitis e identificadas como patógenos propios de la enfermedad (Consensus report, 1996). Estas especies pertenecen a un cluster denominado complejo rojo y se encuentra compuesto por *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Treponema denticola* (*T. denticola*), y *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) (Socransky SS et al, 1998). López NJ y colaboradores demostraron que más del 90% de los sitios activos son colonizados por bacterias

del complejo rojo (López NJ et al, 2004). Posterior a las bacterias del complejo rojo, la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) es la más elevada (López NJ et al, 1996, López NJ, 2000).

Aunque las bacterias son necesarias para que la periodontitis se desarrolle, no basta solo con el biofilm subgingival, también es necesario un hospedero susceptible (Lang NP et al, 1990). La respuesta inmune inflamatoria que se desarrolla en los tejidos periodontales, en respuesta a la presencia crónica de las bacterias de la biopelícula generan inflamación y alteración de la homeostasis ósea y conectiva destruyendo así los principales componentes estructurales del periodonto (Kornman KS et al., 2008).

Respuesta inmune en Periodontitis Crónica

Interacciones entre las bacterias y el hospedero en la interfaz del biofilm y el periodonto, sumado a los factores de virulencia bacterianos, gatillan la síntesis de citoquinas y otros mediadores inflamatorios que promueven la liberación de enzimas y moléculas que finalmente inducen alteraciones del metabolismo del tejido conjuntivo y la destrucción del soporte óseo alveolar de los dientes (Graves DT, 2008, Gemmell E et al, 2002).

La defensa contra los microorganismos está mediada por la inmunidad innata y adaptativa. La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa contra los microorganismos. Su función es impedir, controlar y eliminar la infección en el hospedero junto con estimular la respuesta inmune adaptativa a través de la captación de los antígenos y su exposición ante linfocitos T vírgenes. Consta de mecanismos de defensa celulares y bioquímicos, como las Beta Defensinas Humanas (hBD) (Abbas AK et al, 2012). Las hBD son péptidos catiónicos cargados positivamente que al unirse a los componentes negativos de la membrana de bacterianas conducen a la formación de poros y la lisis celular (Scott MG et al, 1999, Sochacki KA et al, 2011). Dentro de las hBD existen tres tipos: 1, 2 y 3, las cuales son producidas por células del epitelio (Diamond DL et al,

2001, Harder J et al, 2001). La hBD-1 es expresada de manera esencial y las hBD-2 y 3 en condiciones normales generalmente son expresadas en bajos niveles y pueden ser gatilladas por bacterias y/o sus componentes o gracias a mediadores inflamatorios (Harder J et al, 2001; Dhople et al, 2006). La hBD-3 se puede encontrar como mRNA y como péptido en el estrato supraespinoso y granular del epitelio gingival (Otte JM et al, 2008, Hosokawa I et al, 2006), sugiriendo que facilita la comunicación entre el epitelio gingival y el tejido conectivo, haciendo de conexión entre la respuesta inmune innata y la adaptativa (Lu Q et al, 2004), ayudando a hBD-1 y hBD-2 en su actividad documentada contra las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas (Harder J et al, 2001). Además ejercen actividad antimicrobiana, modulando la respuesta inmune (McCormick TS et al, 2010). La hBD-3 puede neutralizar el potencial inflamatorio de los lipopolisacáridos (LPS), uniéndose directamente al LPS o mediante la prevención de la unión de LPS a los receptores celulares, bloqueando así la vía de señalización celular (Lee SH et al, 2010). Es una defensina importante en la cavidad oral y se expresa en respuesta a la invasión bacteriana (Gursoy UK et al, 2012, Vankeerberghen A et al, 2005). Estudios refieren que hBD-3 es sintetizada y liberada en el fluido gingival crevicular (FGC) en individuos sanos (Brancatisano FL et al, 2011). Bissel y colaboradores al comparar pacientes libres de enfermedad versus pacientes con periodontitis, encontraron una mayor concentración de hBD-3 en los individuos sanos, al igual que Dunsche, quien comparó individuos sanos versus pacientes con signos clínicos de inflamación (Bissel J et al, 2004; Dunsche A et al, 2002), por lo tanto, la presencia de hBD-3 se podría asociar a salud periodontal. Ésta marcada reducción podría estar relacionada con la capacidad de ciertos periodontopatógenos de inactivar los péptidos o disminuir su expresión proteolíticamente (Carlisle MD et al, 2009, Maisetta G et al, 2011) (ver Figura 1).

Una vez iniciada la respuesta inmune, productos bacterianos como el LPS, son captados por células dendríticas y macrófagos, las cuales activan a su vez a otras células como monocitos, fibroblastos, células epiteliales y endoteliales, que en condiciones inflamatorias (Daniels RH et al, 1992, Smith WB et al, 1993) generan una reacción en cascada de citoquinas, como la interleuquina-8 (IL-8)

(Graves DT, 1999). IL-8 es la principal citoquina con capacidad quimiotáctica que apoya la migración de polimorfo nuclear neutrófilos (PMNN) al tejido. De este modo, el reclutamiento temprano de neutrófilos refleja la producción temprana y abundante de IL-8 por los macrófagos que residen en los tejidos en respuesta a las infecciones (Abbas AK et al, 2012), por lo que se constituye como un factor importante durante la respuesta inflamatoria en la periodontitis (Tonetti MS et al, 1998). La IL-8 se expresa en pacientes enfermos, sanos y periodontalmente tratados (Gamonal J et al, 2000). Chung y colaboradores reportan que hay mayor cantidad de IL-8 en el FGC de pacientes con periodontitis, que en el de sanos (Chung RM et al, 1997), mientras que Gamonal y colaboradores demuestran que sus niveles disminuyen posterior al tratamiento (Gamonal J et al, 2001), estableciendo así una correlación positiva entre la enfermedad y los niveles de la IL-8 (ver Figura 1).

El inicio de la respuesta adaptativa y su desarrollo requiere de la captación de antígenos y su exposición ante linfocitos específicos. Algunas células que cumplen esta misión son las células dendríticas, encargadas de atrapar los antígenos microbianos que penetran desde el medio externo, transportarlos hacia los linfonodos y presentárselos a linfocitos T vírgenes para desencadenar la respuesta inmune. Dependiendo de la naturaleza del microorganismo que induce la respuesta y del tipo de citoquinas que existan en el linfonodo, una célula dendrítica dirigirá la diferenciación del linfocito T virgen a distintos tipos de células efectoras, como los linfocitos T cooperadores-17 (Th-17) (Abbas AK et al, 2012). Los Th-17, representan una gran proporción del infiltrado inflamatorio que invade los tejidos periodontales durante la periodontitis (Cardoso CR et al., 2009). Éstos liberan IL-17, la que tiene la capacidad de estimular la expresión de otras citoquinas con el fin de reclutar más PMNN, quienes pueden exacerbar la inflamación (Abbas AK et al, 2012). Los Th-17 promueven la osteoclastogénesis a través de la producción de IL-17 y ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL), como también mediante el reclutamiento de células inmunes activadas por IL-17, las cuales liberan citoquinas inflamatorias que estimulan la expresión de RANKL en osteoblastos y células Th-17 (Vernal R y García Sanz JA, 2008). Asimismo RANKL fue sintetizado dentro de lesiones periodontales donde la

IL-17 fue producida por células Th-17 gingivales, generando pérdida ósea (Kramer JM y Gaffen SL, 2007). Estudios muestran un aumento de la síntesis de RANKL y una sobre expresión de IL-17 en lesiones activas en periodontitis crónica agravando el ciclo de la enfermedad (Dutzan N et al, 2009; Vernal R et al, 2005). Reuniendo todos los datos, se podría establecer que las células Th-17 inducen la osteoclastogénesis y la reabsorción ósea a través de la síntesis de IL-17 y RANKL (Vernal R y García Sanz JA, 2008) (ver Figura 1).

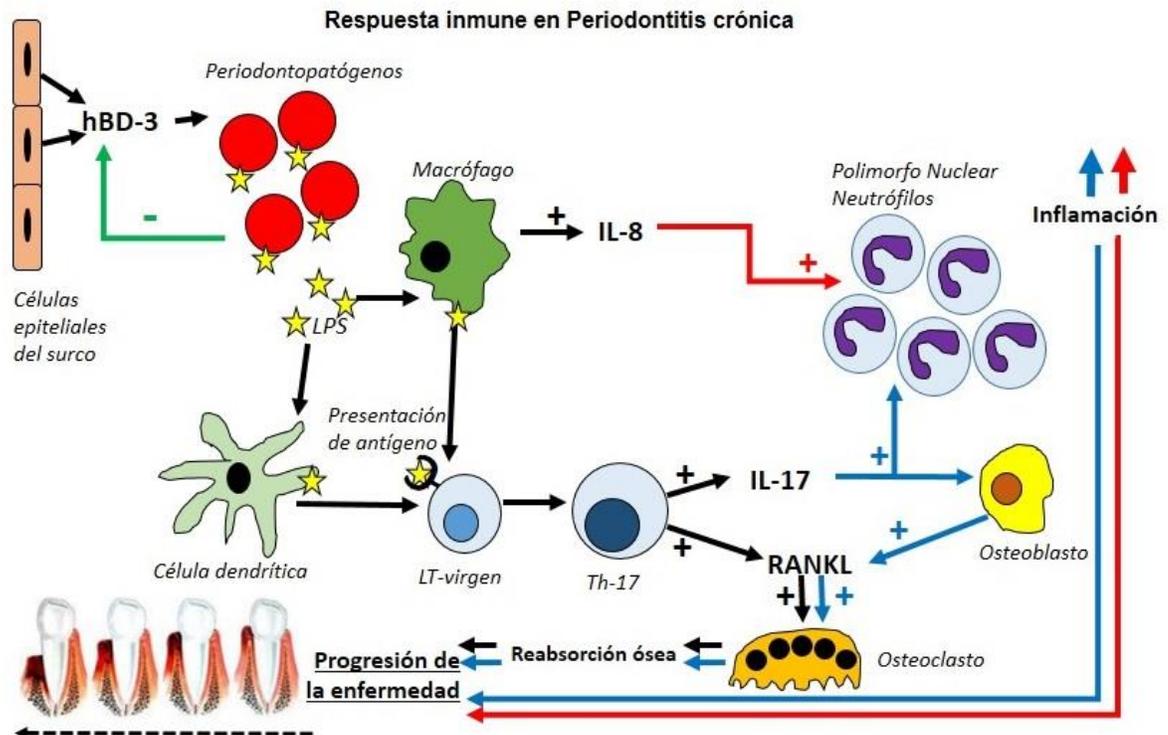


Figura 1. Resumen de acción de hBD-3, IL-8 e IL-17 en Periodontitis Crónica.

Terapia Periodontal

El principal objetivo de la terapia periodontal es mantener o ganar inserción clínica eliminando la infección, en consecuencia, reducir la profundidad del saco periodontal y sangrado al sondaje. Estos resultados clínicos se consiguen cuando los niveles, proporciones y porcentaje de sitios colonizados por diferentes patógenos periodontales se reducen de manera efectiva después de la terapia y una nueva comunidad microbiana de mayor compatibilidad con la salud del hospedero se establece en la cavidad oral (Teles RP et al, 2006).

El tratamiento gold standard de la periodontitis es el raspado y alisado radicular (RAR) (American Academy of Periodontology, 2000a; American Academy of Periodontology, 2000b; Hastings C, 2002), generando efectos tanto clínicamente como inmunológicamente:

-Resultados clínicos: reduce la inflamación de los tejidos periodontales, disminuye la profundidad al sondaje (PS) y genera una mantención o ganancia de NIC (Adriaens PA y Adriaens LM, 2005).

-Resultados inmunológicos, disminuye los niveles de IL-17 (Zhao L et al, 2011) y de IL-8 (Konopka L et al, 2012) y aumenta los valores de hBD-3 (Ebrahim MA, 2013) en FGC.

En el manejo de la infección periodontal se debe tomar en consideración el hecho de que el éxito terapéutico radica en el control del agente etiológico infeccioso, mediante la remoción mecánico-quirúrgica y/o terapia antimicrobiana. El tratamiento antimicrobiano ocasiona un cambio cuantitativo y cualitativo en la composición bacteriana del biofilm, además de ser capaz de actuar en sitios que son inaccesibles a través de tratamiento mecánico (López-Píriz R et al, 2007). Es por ello que se ha propuesto que, en complementación con el RAR, se utilicen antibióticos, los cuales tienen beneficios en pacientes con sacos periodontales muy profundos, en lesiones periodontales agudas o reagudizadas o en pacientes con ciertos perfiles microbiológicos (Herrera D et al, 2002).

El uso inadecuado de antimicrobianos puede conducir a formar especies bacterianas resistentes en el biofilm, además de los efectos secundarios y las alteraciones ecológicas en el hospedero (López-Píriz R et al, 2007). Los agentes antimicrobianos pueden ser útiles como complemento al tratamiento de infecciones periodontales. Haffajee AD y sus colaboradores en 2003, concluyen en una revisión sistemática, que no está claro cuál agente debe ser usado para cada tipo de infección oral, cuál es la dosis y duración óptima de la terapia, cuáles sujetos son los que más se benefician con los antibióticos sistémicos, cuándo se debe complementar con antibióticos el RAR, cuánto tiempo debemos esperar para obtener un resultado clínico exitoso y de qué naturaleza son los peligros, como la

resistencia antibiótica o la alteración secundaria de la microbiota oral como resultado de la administración antibiótica (Haffajee AD et al, 2003). La mala interpretación de las directrices médicas (Hanchak N et al, 1996), las reacciones adversas gastrointestinales (Kruse W et al, 1993) y/o la duración del régimen de medicación (Paes AH et al, 1997) son algunos factores que se han relacionado con la falta de adherencia al tratamiento con antibióticos. Aunque independiente del cumplimiento que tenga el paciente, el RAR en conjunto con el uso sistémico de antimicrobianos, proporcionan un beneficio clínico sobre el RAR solamente, particularmente en sacos periodontales profundos (Haffajee AD et al, 2007).

La enfermedad periodontal sigue siendo un problema trascendental en salud pública. Los planteamientos preventivos y de tratamiento existentes no son del todo eficaces y esto se debe al enfoque actual, el cual se orienta principalmente al manejo de la biopelícula, olvidando por completo el control de la inflamación y el daño que éste ocasiona en los tejidos aledaños (Tonetti MS y Chapple IL, 2011). Debido a lo expuesto anteriormente, sumado a las limitaciones de los antibióticos, se sugiere la introducción de probióticos y la terapia de reemplazo bacteriano en el campo de la periodoncia.

Terapia con Probióticos

Los probióticos se definen como “microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguros para el consumo humano y, cuando se ingieren en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana, más allá de la nutrición básica” (FAO/OMS, 2002)

Los mecanismos generales de los probióticos pueden ser divididos en tres categorías principales: la normalización de la microbiota intestinal, la modulación de la respuesta inmune, y los efectos metabólicos (Parvez S et al, 2006). Los mecanismos de acción de los probióticos en la cavidad oral podrían ser análogos a los descritos para el intestino (ver Figura 2) (Haukioja A, 2010).

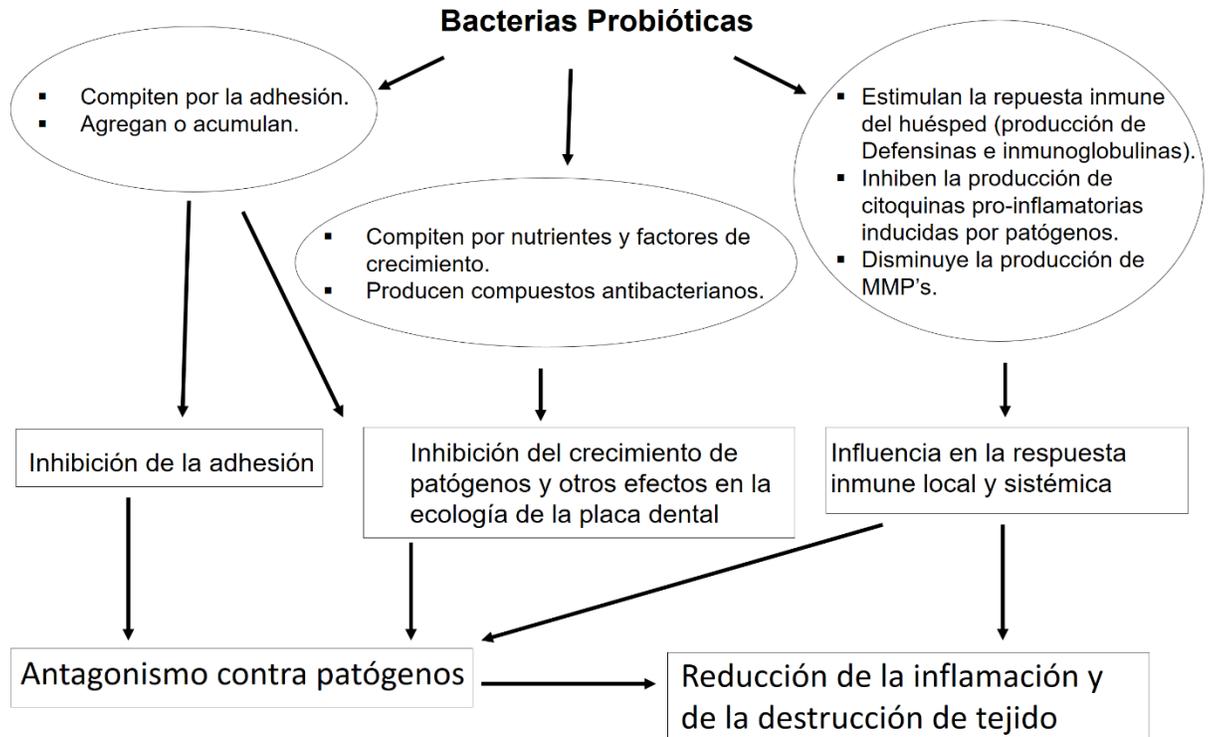


Figura 2. Potencial mecanismo por el cual las bacterias podrían afectar la salud oral. Modificado de Haukioja A, 2010.

Los efectos de las bacterias probióticas parecen ser cepa específicos, y no pueden ser extrapolables a otras cepas. Por otra parte, una misma cepa, puede tener diferentes efectos en distintos individuos (Köll-Klais P et al, 2005).

En un estudio donde se evaluó una muestra de 357 cepas de 10 especies de *Lactobacillus* spp. orales, demostró que *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, y *Lactobacillus rhamnosus* poseían un fuerte efecto inhibitorio contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* y también patógenos periodontales Gram-negativos como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* (Teanpaisan R et al, 2011). Otro estudio sugiere que los *Lactobacillus* spp. suprimen el crecimiento de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y *P. intermedia*. (Köll-Klais P et al, 2005). Investigadores aislaron en bocas sanas *L. rhamnosus* y *L. paracasei*, que poseían capacidad antimicrobiana contra *Actinomyces viscosus*, *P. gingivalis* y *Candida* (Sookhee S et al, 2001). La administración oral de probióticos redujo el número de

cinco bacterias periodontopatógenas y podría contribuir a la generación de efectos beneficiosos sobre las condiciones periodontales, (Mayanagi G et al, 2009). Jindal y colaboradores usaron dos polvos de disolución, uno con *L. rhamnosus* y otro placebo, en donde los análisis de datos arrojaron una disminución estadísticamente significativa de los niveles de *S. mutans* (Jindal G et al, 2011). De igual manera, hubo una reducción significativa de caries al usar yogurt con *L. rhamnosus* (Aminabadi NA et al, 2011), como también al usar leche con el probiótico (Juneja A et al, 2012). Teughels W. y colaboradores describen que la aplicación de bacterias beneficiosas después de raspado y alisado radicular en perros Beagle con periodontitis inducida, produjo un retraso y reducción de la recolonización de bacterias periodontales patógenas y una disminución de la inflamación (Teughels W et al, 2007), además de inhibir la adhesión de patógenos periodontales comunes, como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, y *T. forsythia* (Teughels W et al. 2008). Radiográficamente se observaron mejoras de los sacos periodontales después del tratamiento periodontal no quirúrgico cuando se aplicaron probióticos en comparación con los controles en un modelo de animal (Nackaerts O et al, 2008). Estudios en humanos, como el de Tekce y colaboradores lograron identificar la colonización del *L. reuteri* en los sacos periodontales de pacientes con periodontitis crónica hasta 90 días después de la administración del probiótico. Los resultados del estudio de Tekce mostraron diferencias significativas intergrupales versus placebo en los parámetros clínicos: profundidad al sondaje, índice de placa, sangrado al sondaje e índice gingival para periodontitis crónica. Se observaron reducciones significativas de profundidad al sondaje en el grupo con probióticos versus el grupo placebo en los controles a los 21, 90, 180 y 360 días (Tekce M et al, 2015). Otras investigaciones también han mostrado una reducción del sangrado al sondaje, índice de placa e índice gingival posterior a la aplicación de los probióticos como coadyuvante a la terapia periodontal no quirúrgica (Krasse P et al, 2005, Kang MS et al, 2006, Riccia DN et al, 2007, Twetman S et al, 2009, Harini PM y Anegundi RT, 2010).

En cuanto a su acción en la parte inmunológica, existe evidencia publicada de su efecto inmunomodulador en humanos, como por ejemplo, mejorando los

síntomas de dermatitis atípica o eczema (Inoue Y et al, 2014), en sistema respiratorio, usado en prevención de alergias, asma y sibilancias respiratorias (Elazab N et al, 2013, Azad MB et al, 2013) y en sistema gastrointestinal, ayudando a modular la inflamación e inmunidad en intestino e hígado (Plaza-Diaz J et al, 2014). Por otro lado, estudios in-vitro de células epiteliales humanas utilizaron *Lactobacillus reuteri* vivos para analizar los efectos inmunológicos de los probióticos y encontraron que *L. reuteri* fue capaz de bloquear la secreción de IL-8 pro-inflamatoria, disminuyendo su concentración intracelular. Ello puede ser la prueba de que este principio del probiótico sirva para la lucha contra la inflamación en la cavidad oral (Ma D et al, 2004). En otro estudio controlado por placebo, se observó una disminución de la concentración de IL-8 en FGC humano al utilizar goma de mascar con *L. reuteri* durante 2 semanas (Twetman S et al, 2009). En otro estudio, con ratones con periodontitis inducida, que fueron tratados tópicamente con *Lactobacillus brevis* CD2, se logró disminuir la pérdida ósea y también la expresión de factor de necrosis tumoral- alfa (TNF- α) y de IL-17 comparado con los placebos (Maekawa T et al, 2014). Kisich y colaboradores demostraron que la expresión de hBD-3 en queratinocitos intestinales humanos aumentaba al contacto con bacterias (Kisich KO et al, 2007).

Considerando los efectos beneficiosos de los probióticos, esta terapia podría servir como un complemento al tratamiento periodontal y/o actuar como reemplazo de la antibioterapia periodontal. El uso de probióticos en aplicaciones para el cuidado oral está ganando impulso como elemento coadyuvante en las terapias periodontales (Vivekananda MR et al, 2010).

Relevancia del problema

Siendo la periodontitis un problema de salud pública y en Chile la segunda causa de pérdida dentaria a nivel (Gamonal J et al, 1998), se hace necesario encontrar herramientas terapéuticas con las menores reacciones adversas posibles para asegurar el bienestar y comodidad del paciente durante la terapia y el éxito de tratamiento realizado.

La terapia probiótica como coadyudante o complemento a la terapia periodontal convencional no quirúrgica, podría ofrecer oportunidades al modificar la microbiota oral y con ello un aumento de las cepas bacterianas benéficas, obteniendo mejores resultados terapéuticos en comparación con el tratamiento periodontal no quirúrgico por sí solo; asegurando el tratamiento y la mantención de la salud periodontal de forma segura para el paciente.

El presente estudio podría complementar el entendimiento de los cambios inmunológicos que producen los probióticos como un complemento a la terapia periodontal convencional. Actualmente no hay pruebas suficientes que demuestran los beneficios de uso terapéutico de los probióticos en pacientes con enfermedad periodontal (Yanine N et al, 2013). Este estudio se encuentra enmarcado en el importante contexto del desarrollo de estrategias de tratamiento en pacientes con enfermedad periodontal en Chile y el mundo. La relevancia clínica de este estudio es que si bien los probióticos se han descrito como beneficiosos en el tratamiento de la periodontitis crónica, se requieren ensayos clínicos que se rijan por las normas CONSORT (Higgins JPT y Green S, 2011) para evaluar su real efectividad (Yanine N et al, 2013).

HIPÓTESIS

En pacientes con periodontitis crónica, al ser tratados con terapia periodontal no quirúrgica, la administración de *Lactobacillus rhamnosus* genera una mejoría de los parámetros clínicos periodontales, una disminución en los niveles de Interleuquina-17 e Interleuquina-8 y un aumento de Beta Defensina-3 presentes en fluido gingival crevicular, en comparación con un placebo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la administración de *Lactobacillus rhamnosus* en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal no quirúrgica en los parámetros clínicos periodontales asociados a los niveles de Interleuquina-8, Interleuquina-17 y Beta Defensina-3 presentes en el fluido gingival crevicular en placa subgingival en comparación con un placebo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Determinar los parámetros clínicos periodontales (nivel de inserción clínica, profundidad al sondaje, sangrado al sondaje, índice de placa) al inicio y una vez finalizada la intervención con probióticos, en el grupo experimental y grupo placebo.
2. Comparar los parámetros clínicos periodontales al inicio y una vez finalizada la intervención con probióticos, en el grupo experimental y grupo placebo.
3. Determinar los niveles de IL-8, IL-17 y Beta Defensinas-3 en fluido gingival crevicular al inicio y una vez finalizada la intervención con probióticos, en el grupo experimental y grupo placebo.
4. Comparar los niveles de IL-8, IL-17 y Beta Defensinas-3 en fluido gingival crevicular al inicio y a los 3 meses una vez finalizada la intervención con probióticos, en el grupo experimental y grupo placebo.

METODOLOGÍA.

Población estudio, criterios clínicos de inclusión y exclusión.

Fueron reclutados voluntarios que acudieron a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en búsqueda de atención periodontal. El tamaño de la muestra en pacientes con periodontitis fue calculado considerando diferencias de al menos 1 mm entre los grupos para cambios en el NIC y asumiendo una desviación estándar de 0,9 mm, un poder estadístico de un 80% y un alfa de 0,05. Basado en estos cálculos, se definió que se necesitaban 14 individuos en el grupo experimental y 14 en el grupo placebo.

- Criterios de Inclusión: Pacientes fumadores o no fumadores que tuvieran ≥ 12 dientes naturales, excluyendo terceros molares. Los pacientes fueron diagnosticados con periodontitis crónica si tenían ≥ 35 años y ≥ 5 dientes con sacos periodontales con profundidad al sondaje (PS) ≥ 4 mm, pérdida de NIC ≥ 1 mm, sangrado al sondaje en al menos 20% de los sitios examinados y reabsorción ósea marginal determinada radiográficamente.

- Criterios de Exclusión: Tratamiento periodontal anterior; presentar enfermedad sistémica, estado de gravedad, tratamiento con anticoagulantes, antibióticos o terapia con antiinflamatorios no esteroideos en los 6 meses anteriores al estudio. El consumo previo de productos que contienen probióticos fue registrado en un Formulario de Hábitos Alimenticios (ver Anexo 1).

Implementación del ensayo clínico

Este fue un estudio aleatorizado, placebo-controlado, de diseño paralelo, doble enmascarado planteado para evaluar los efectos del uso de probióticos en los niveles de IL-8, IL-17 y hBD-3 en fluido gingival crevicular (FGC) cuando eran usados como coadyuvantes al tratamiento periodontal convencional no quirúrgico. Luego del reclutamiento, el cual se realizó mediante un sondeo inicial (ver Anexo 2), los individuos fueron asignados aleatoriamente al grupo placebo o al grupo experimental, considerando el género, edad y el hábito tabáquico luego del

examen de las características basales. La aleatorización fue ocultada mediante el uso de contenedores de igual apariencia, numerados secuencialmente, que contenían las dosis para el período comprendido del estudio de probiótico o placebo. La secuencia de asignación fue generada por un investigador, quien tuvo una mínima relación con las mediciones y el tratamiento, mediante el uso de una tabla de número aleatorios. Ésta fue ocultada hasta el final del análisis de datos. El código de la aleatorización fue develado cuando todos los datos inmunológicos y clínicos fueron recolectados al finalizar de intervención.

Luego de ser asignados, todos los pacientes recibieron una instrucción de higiene oral y un tratamiento periodontal completo, consistente en terapia periodontal no quirúrgica con RAR por cuadrante, y una terapia de soporte periodontal cada 3 meses. Los grupos fueron:

- Grupo experimental: En conjunto con el tratamiento de RAR recibieron un sobre con un polvo de disolución oral que contenía *Lactobacillus rhamnosus* SP1 (1×10^8 unidades formadoras de colonia/sobre), el cual debían disolver en 200 ml de agua e ingerirlo después del cepillado nocturno por 3 meses.

- Grupo placebo: En conjunto con el tratamiento de RAR, recibieron un sobre con un polvo de disolución oral placebo, el cual tenía el mismo sabor, textura y apariencia que el grupo experimental. Debían disolverlo en 200 ml de agua e ingerirlo después del cepillado dental nocturno por 3 meses.

Después de la asignación a cualquiera de los grupos experimental o placebo, fueron enmascarados los pacientes, los tratantes, el evaluador del resultado, el recolector y analista de datos.

Los parámetros clínicos, incluyendo profundidad al sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NIC), sangrado al sondaje (SS) e índice de placa (IP) fueron obtenidos de todos los dientes presentes al inicio del estudio, en seis sitios por diente. Los datos fueron consignados en un formulario de evaluación clínica (ver Anexo 3). Se utilizó una sonda manual de primera generación (UCN-15, Hu

Friedy, Chicago, IL, EE.UU.). Un examinador calibrado realizó todas las mediciones en los pacientes. Los parámetros clínicos e inmunológicos fueron registrados en dos instancias, al inicio del estudio (día 0) y al finalizar la intervención con probióticos.

Colección de Fluido Gingival Crevicular.

Las muestras de FGC fueron colectadas al inicio y al terminar la intervención con probióticos. El FGC fue colectado en tiras de papel (ProFlow, Amitville, NY, EE.UU.) posicionadas en el saco periodontal más profundo de la boca durante 30 segundos. Las tiras contaminadas con saliva o sangre fueron excluidas del grupo de muestras. Después de la colección, el FGC fue extraído por centrifugación a 12.000 G durante 5 minutos a 4°C para un volumen final de 100 µl por tira de solución buffer que contenía 50 mM CaCl₂, 0,01% Tritón X-100 y agua destilada y después se almacenó a -80 °C hasta los análisis posteriores.

Niveles de indicador de respuesta inmune: IL-8, IL-17 y hBD-3

Alícuotas de cada muestra fueron analizadas por una prueba inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), para determinar los niveles según las recomendaciones del fabricante. Los resultados fueron expresados como concentración de proteínas (pg/ml) por cada sitio analizado.

Variables de resultado

Las variables de resultado fueron la concentración en proteínas (pg/ml) de IL-8, IL- 17 y hBD-3 en FGC. Además, se analizaron las variables clínicas, como el NIC, PS, IP e IS.

Operacionalización de variables.

Las variables a analizar se clasificaron en tipo numérico (ver Tabla 1) y en tipo nominal (ver Tabla 2) con sus respectivas definiciones, codificaciones, unidades de medida, índice y cálculo del delta de la variable.

Tabla 1. Variables Numéricas.

Variable	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Codificación	Unidad de Medida	Cálculo de Delta
IL-8	Cuantitativa continua	Citoquina presente en animales, de naturaleza pro-inflamatoria encontrada en FGC	Cantidad de proteínas presentes en el fluido gingival crevicular de cada sitio examinado	Valor numérico	Picogramos/mililitro	Concentración al finalizar el estudio – Concentración al inicio del estudio
IL-17	Cuantitativa continua	Citoquina presente en animales, de naturaleza pro-inflamatoria encontrada en FGC.	Cantidad de proteínas presentes en el fluido gingival crevicular de cada sitio examinado	Valor numérico	Picogramos/mililitro	Concentración al finalizar el estudio – Concentración al inicio del estudio
hBD-3	Cuantitativa continua	Péptido efector de inmunidad innata presente en animales encontrada en FGC	Cantidad de proteínas presentes en el fluido gingival crevicular de cada sitio examinado	Valor numérico	Picogramos/mililitro	Concentración al finalizar el estudio – Concentración al inicio del estudio
PS	Cuantitativa continua	Distancia desde el margen gingival al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado.	Distancia en milímetro desde el margen gingival al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado.	Valor numérico	Milímetros	Distancia al finalizar el estudio – Distancia al inicio del estudio
NIC	Cuantitativa continua	Distancia desde la unión amelocementaria al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado.	Registro en mm, mediante el cálculo aritmético: Profundidad de Sondaje – Posición de la encía.	Valor numérico	Milímetros	Distancia al finalizar el estudio – Distancia al inicio del estudio

Tabla 2. Variables Nominales.

Variable	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Codificación	Unidad de Medida	Índice	Cálculo de Delta
SS	Catógórica dicotómica	Presencia de sangrado en el surco gingival o saco periodontal luego de realizar el sondaje de un sitio.	Porcentaje de sitios con sangrado gingival producido hasta 15 segundos después de la introducción de la sonda periodontal en el surco gingival o saco periodontal del total de sitios examinados.	- Sitio sin sangrado: 0 - Sitio con sangrado: 1	Porcentaje	Índice de sangrado= $\frac{N^{\circ} \text{ sitios (+)}}{\text{total sitios}} \times 100$	Porcentaje al finalizar el estudio - Porcentaje al inicio del estudio
IP	Catógórica dicotómica	Presencia de depósitos blandos ubicados en la porción cervical del diente.	Porcentaje de sitios con presencia de depósitos blandos ubicados en la porción cervical de las superficies bucal, mesial, lingual y distal del total.	- Sitio sin placa: 0 - Sitio con placa: 1	Porcentaje	Índice de placa= $\frac{N^{\circ} \text{ sitios (+)}}{\text{total sitios}} \times 100$	Porcentaje al finalizar el estudio - Porcentaje al inicio del estudio

Consideraciones éticas

El protocolo del estudio se hizo de acuerdo con las directrices éticas locales y en conformidad con la Declaración de los Derechos Humanos de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (ver Anexo 4).

A cada participante que cumplió con los criterios de inclusión, le fue entregado un consentimiento informado para que fuera revisado, consentido y firmado por él para su aprobación e ingreso al estudio (ver Anexo 5). A todos los participantes se les informó de su salud oral. Todos los participantes fueron instruidos para mejorar su higiene oral y recibieron un tratamiento periodontal completo y terapia de mantención periodontal cada 3 meses durante el período del estudio.

Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó según intención de tratar.

Se utilizó el test de Shapiro Wilk para determinar la normalidad de las variables cuantitativas continuas.

Los datos cuantitativos fueron registrados como media \pm Desviación Estándar (DE) para todos los parámetros investigados. El test de Wilcoxon fue usado para comparar los parámetros intragrupal. A su vez, el test U de Mann-Whitney y el test Exacto de Fisher fueron usados para comparar los parámetros intergrupales.

Un nivel de un 95% de confianza fue considerada como estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El análisis estadístico fue realizado usando Microsoft Excel® 2011, el programa GraphPad Prisma 5 y 6 (GraphPad Software Inc. La Jolla, CA, USA) y el paquete estadístico de Stata® 12 (StataCorp, College Station, TX).

RESULTADOS

Se reclutaron 28 pacientes los cuales fueron distribuidos en el grupo experimental (RAR + Probiótico) y el grupo control (RAR + Placebo) en igual cantidad (ver Figura 3). Ambos grupos fueron compuestos por un 50% de pacientes de género femenino y un 50% del masculino. La media de edad del grupo experimental fue de $52,4 \pm 10,9$ años, y del grupo control fue de $52,5 \pm 8,1$ años. Todos los pacientes terminaron el estudio y no se reportaron efectos adversos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables demográficas entre ambos grupos (ver Tabla 3).

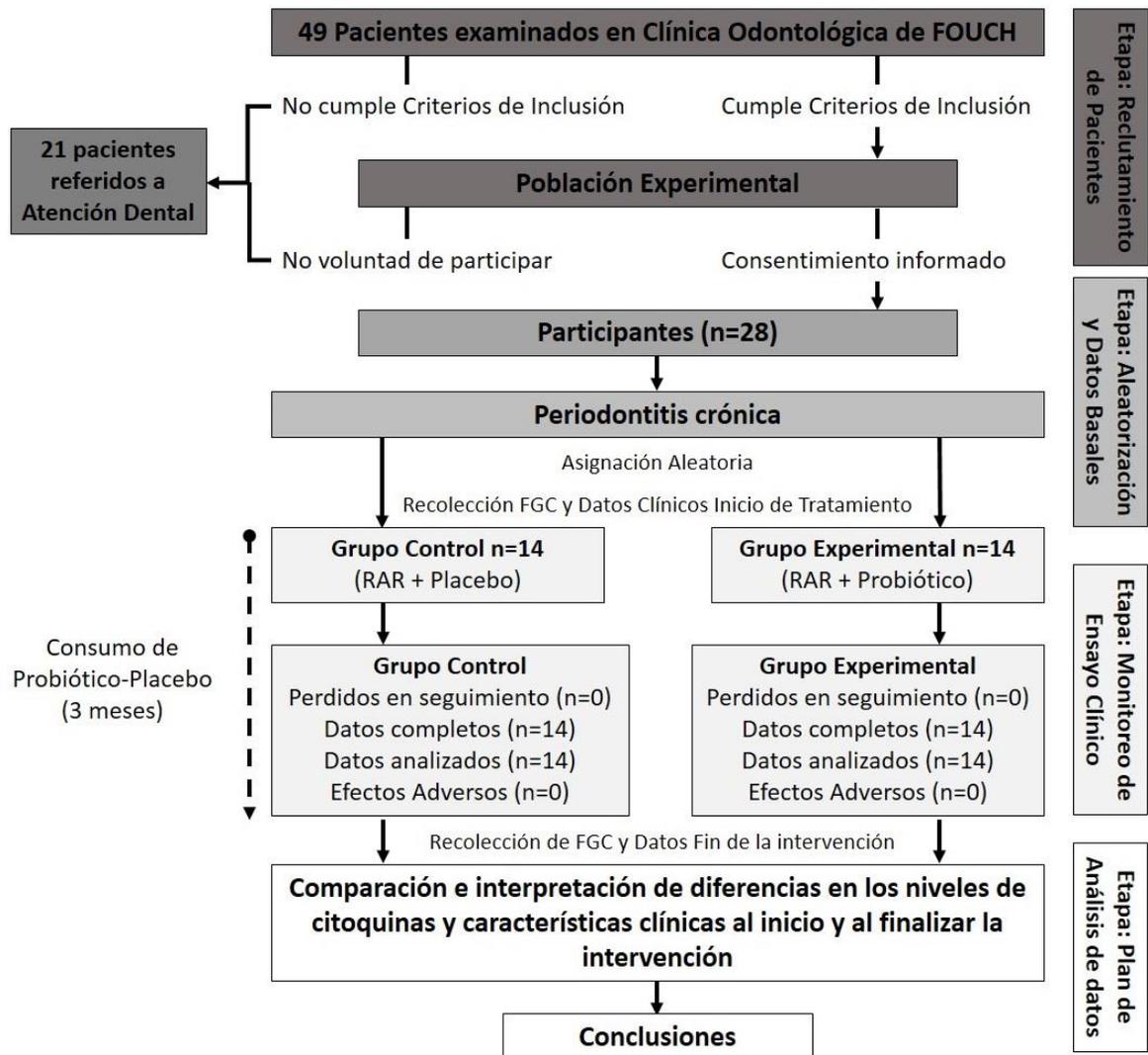


Figura 3. Flujoograma del estudio

Tabla 3. Información demográfica de pacientes en los grupos de tratamiento.

Variable	Grupos Tratamiento		p-value
	RAR + Probióticos (n=14)	RAR + Placebo (n=14)	
Edad ¹ (años)	52,4 ± 10,9	52,5 ± 8,1	0,746
Género ² (h/m)	7/7	7/7	1
Fumadores ²	3	1	0,596

¹Test de Mann Whitney U; ²Test exacto de Fisher

Comparación intergrupala de parámetros clínicos

En relación a los parámetros clínicos registrados al inicio del estudio, el NIC y la PS del grupo experimental fue en promedio de $3,6 \pm 0,9$ mm y $2,9 \pm 0,7$ mm respectivamente, mientras que en el grupo control fue de $3,6 \pm 1,2$ mm y $2,8 \pm 0,5$ mm. El IS registrado en el grupo experimental fue en promedio de $50,8 \pm 17,4\%$ y en el grupo control $45,5 \pm 20,4\%$, a su vez, el IP en el grupo experimental fue en promedio de $61,2 \pm 20,4\%$ y en el grupo control $56,3 \pm 20,4\%$. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los parámetros clínicos basales (ver tabla 4).

Al examinar una vez finalizada la intervención, el NIC y la PS del grupo probiótico fue en promedio de $3,5 \pm 1,0$ mm y $2,2 \pm 0,6$ mm respectivamente, mientras que en el grupo placebo fue de $3,5 \pm 1,0$ mm y $2,3 \pm 0,5$ mm. El SS registrado a los 3 meses en el grupo experimental fue en promedio de $36,5 \pm 13,2\%$ y en el grupo control $32,9 \pm 14,0\%$, a su vez, el IP en el grupo experimental fue en promedio de $29,2 \pm 15,9\%$ y en el grupo control $27,4 \pm 14,8\%$ respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos probiótico y placebo en los parámetros clínicos al finalizar la intervención (ver Tabla 4).

Para comparar los valores clínicos finales e iniciales, las mediciones fueron expresadas en deltas, considerando los registros al inicio del estudio y al finalizar la intervención. Los deltas de pérdida de inserción registrados al término de la intervención fueron de $-0,2 \pm 0,3$ mm para el grupo experimental y de $-0,1 \pm 0,5$ mm para el grupo control. En PS, se observó un delta de $-0,7 \pm 0,2$ mm en el

grupo probiótico y un $-0,5 \pm 0,3$ mm en el grupo placebo. Para el SS, los deltas registrados fueron de $-14,3 \pm 13,4\%$ para el grupo experimental y de $-12,6 \pm 13,0\%$ para el grupo control al término de la intervención. Por último, para el IP los deltas registrados fueron de $-32,0 \pm 18,7\%$ para el grupo experimental y de $-28,8 \pm 16,6\%$ para el grupo control a finalizar la intervención. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en el tiempo basal y al finalizar la intervención.

Comparación intergrupala de variables inmunológicas

En cuanto a niveles de citoquinas basales, la IL-8 se encontraba en el grupo experimental en un promedio de $616,6 \pm 842,6$ pg/ml y en el grupo control $398,4 \pm 593,5$ pg/ml, por otro lado, la IL-17 y hBD-3 se encontraron en el grupo experimental en un $31,8 \pm 69,1$ y $65,9$ pg/ml respectivamente, mientras que en el grupo control $46,8 \pm 102,7$ y $30,9 \pm 72,6$ pg/ml. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimental y control en ninguna variable inmunológica en el tiempo basal.

Al cuantificar las variables a los 3 meses, la IL-8 se encontraba en un promedio de $274,8 \pm 569,5$ pg/ml en el grupo probiótico, mientras que en el placebo $175,5 \pm 262,5$ pg/ml. La IL-17 registrada en el grupo experimental fue en promedio de $9,4 \pm 23,6$ pg/ml y en el grupo control $22,5 \pm 45,8$ pg/ml, a su vez, la hBD-3 en el grupo probiótico fue de $112,6 \pm 249,1$ pg/ml en promedio y en el grupo control $76,4 \pm 112,6$ pg/ml. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimental y control en ninguna variable inmunológica al compararlos al finalizar la intervención (ver Tabla 4).

Al analizar la variación de los parámetros inmunológicos, en el nivel de IL-8 se registró un delta de $-419,3 \pm 739,5$ para el grupo probiótico y un $-183,7 \pm 393,1$ para el grupo placebo. Para IL-17 un $-22,4 \pm 73,9$ para el grupo experimental y un $-24,3 \pm 81,4$ para el grupo control. Finalmente para hBD-3 se registró un $46,7 \pm 205,6$ para el grupo probiótico y un $45,6 \pm 186,3$ para el grupo placebo, siendo el único grupo con valores positivos. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la variación de los parámetros inmunológicos en el tiempo basal ni al finalizar la intervención (ver Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de NIC, PS, SS, IP, IL-8, IL-17 y hBD-3 en tiempo basal y al finalizar (Media \pm DE y Δ \pm DE).

Variable	Probiótico		Placebo		<i>p</i> -value	
	Media \pm DE	Δ \pm DE	Media \pm DE	Δ \pm DE	para Media	para Δ
NIC Basal (mm)	3,6 \pm 0,9		3,6 \pm 1,2		0,8180	
	3 Meses (mm)	-0,2 \pm 0,3	3,5 \pm 1,0	-0,1 \pm 0,5	0,8179	0,8531
PS Basal (mm)	2,9 \pm 0,7		2,8 \pm 0,5		0,8536	
	3 Meses (mm)	-0,7 \pm 0,2	2,2 \pm 0,6*	-0,5 \pm 0,3	0,1808	0,4044
SS Basal (%)	50,8 \pm 17,4		45,5 \pm 20,2		0,4081	
	3 Meses (%)	-14,3 \pm 13,4	36,5 \pm 13,2*	-12,6 \pm 13,0	0,7303	0,8542
IP Basal (%)	61,2 \pm 20,4		56,3 \pm 20,4		0,6132	
	3 Meses (%)	-32,0 \pm 18,7	29,2 \pm 15,9*	-28,8 \pm 16,6	0,6131	0,6294
IL-8 Basal (pg/ml)	616,6 \pm 842,6		398,4 \pm 593,5		0,3281	
	3 Meses (pg/ml)	-419,3 \pm 739,5	274,8 \pm 569,5*	-183,7 \pm 393,1	0,2562	0,6552
IL-17 Basal (pg/ml)	31,8 \pm 69,1		46,8 \pm 102,7		0,6538	
	3 Meses (pg/ml)	-22,4 \pm 73,9	9,4 \pm 23,6	-24,3 \pm 81,4	0,5943	0,4546
hBD-3 Basal (pg/ml)	65,9 \pm 132,7		30,9 \pm 72,55		0,1354	
	3 Meses (pg/ml)	46,7 \pm 205,6	112,6 \pm 249,1	45,6 \pm 186,3	0,9111	0,4012

Δ : Delta; DE: Desviación Estándar

NIC: Nivel de Inserción Clínica; PS: Profundidad al Sondaje; SS: Sangrado al Sondaje; IP: Índice de Placa; IL-8: Interleuquina-8; IL-17: Interleuquina-17; hBD-3: Beta defensina-3

*El análisis intragrupal se realizó con el Test de Wilcoxon. $p < 0,05$

^El análisis intergrupar se realizó con el Test de U Mann Whitney. $p < 0,05$

Comparación intragrupal de parámetros clínicos e inmunológicos

Al comparar los parámetros clínicos intragrupales se observó que hubo diferencias significativas entre el tiempo basal y al finalizar la intervención. En el grupo probiótico hubo una disminución significativa de PS ($p=0,001$), SS ($p=0,0052$) e IP ($p=0,0015$) y no significativa de NIC ($p=0,1311$). En el grupo placebo se observó algo similar, hubo una disminución significativa de PS ($p=0,0031$), SS ($p=0,0185$) e IP ($p=0,001$) y no significativa de NIC ($p=0,4488$). Al cotejar los datos inmunológicos, se registró en el grupo probiótico una disminución significativa de IL-8 ($p=0,0066$) y una diferencia no significativa de los niveles de IL-17 ($p=0,2556$) y hBD-3 ($p=0,5294$). Mientras que en el grupo control, hubo una disminución significativa de IL-8 ($p=0,0148$) y de IL-17 ($p=0,0167$) y finalmente la

hBD-3 no registró diferencias significativas ($p=0,521$) entre el inicio y el fin de la intervención.

DISCUSIÓN

En este estudio de 3 meses de intervención fueron analizados los cambios en los niveles de IL-8, IL-17 y hBD-3 junto a los parámetros clínicos, asociados al uso de *L. rhamnosus* SP1 y placebo en polvo de disolución oral en un tratamiento convencional no quirúrgico en pacientes con periodontitis crónica. 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 *L. 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 N et al, 2013).

En relación a los parámetros clínicos, en este estudio se observó que los pacientes que eran parte del grupo probiótico y placebo, al finalizar la intervención presentaron una disminución significativa de los promedios de PS, SS e IP al compararlo con los promedios obtenidos en el tiempo basal.

Estudios similares obtuvieron datos clínicos análogos al comparar el uso del probiótico con un placebo, la diferencia fue la cepa de *Lactobacillus* spp. utilizada, el tiempo de seguimiento y el vehículo utilizado. Vivekananda y colaboradores utilizaron RAR junto a *L. reuteri* Prodentis durante 42 días en pastillas solubles en boca, donde obtuvieron una disminución significativa de índice de placa, índice gingival e índice de sangrado al final del estudio al comparar el grupo probiótico con el grupo placebo (Vivekananda MR et al, 2010). Vicario y colaboradores

utilizaron RAR junto a *L. reuteri* Prodentis en pastillas orales durante 30 días, ellos registraron una disminución significativa de índice de placa, sangrado al sondaje y profundidad al sondaje a los 30 días de seguimiento al cotejar el grupo experimental con el placebo (Vicario M. et al, 2013). Teughels y colaboradores también, utilizaron terapia periodontal no quirúrgica en conjunto con *L. reuteri* Prodentis en pastillas orales durante 12 semanas, donde concluyeron que la pérdida de inserción clínica y profundidad al sondaje disminuían significativamente en el grupo que consumió *L. reuteri* Prodentis al compararlo con un placebo (Teughels W et al, 2013). Tekce y colaboradores analizaron el uso adjunto de *L. reuteri* Prodentis en pastillas orales a la terapia periodontal convencional durante 1 año y concluyeron que había una diferencia significativa de índice de placa, índice gingival, sangrado al sondaje y profundidad al sondaje entre el grupo experimental y el grupo placebo (Tekce M et al, 2015). Finalmente Ínce y sus colaboradores evaluaron el uso de *L. reuteri* en pastillas orales durante 21, 90, 180 y 360 días, donde registraron diferencias significativas de índice de placa, índice gingival, sangrado y profundidad al sondaje al comparar el grupo probiótico con el grupo placebo (Ínce G et al, 2015).

En el presente estudio, al evaluar los resultados de la cuantificación de los niveles de IL-8 presentes en el FGC, se puede observar que existe una disminución significativa de sus niveles, tanto del grupo experimental como control, comparando los niveles obtenidos el día 0 y al finalizar la intervención. Sin embargo, al realizar la comparación entre los grupos sobre los niveles obtenidos de IL-8 en el día 0 y a los 3 meses, no se evidenció una diferencia significativa entre ellos. No hay evidencia en la literatura actual de ensayos clínicos randomizados que evalúen el efecto que produce *L. rhamnosus* SP1 o su clon *L. rhamnosus* GG en los niveles de IL-8 en relación a periodontitis, pero sí sobre el efecto que genera el RAR. En un estudio realizado en 2012, por Konopka L y colaboradores, se reclutaron 31 pacientes con periodontitis crónica generalizada severa y 20 pacientes sanos, se midieron los parámetros clínicos de índice de placa, índice gingival, profundidad al sondaje y nivel de inserción clínica y se tomaron muestras de FGC para citoquinas. Mediante ELISA se cuantificaron los niveles presentes de interleuquina 1 beta (IL-1 β), IL-8 y Metaloproteinasa 8 (MMP-

8), al comienzo del estudio, a 1 y 4 semanas de haber realizado el RAR en el grupo de pacientes con periodontitis crónica. Los resultados obtenidos mostraron una significativa mejoría de los parámetros clínicos (excepto NIC), y mostraron además una marcada disminución de los niveles de IL-1 β , IL-8 y MMP-8 en el FGC, especialmente a las 4 semanas de realizado el RAR en el grupo de pacientes con periodontitis crónica. Sin embargo, los niveles de IL-1 β , 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 et al, 2012).

Hay evidencia del efecto de *L. rhamnosus* GG en relación a problemas gastrointestinales. En un estudio *in-vitro* en Corea, se estimularon células intestinales (HT-29) con LPS bacteriano en presencia y ausencia de *L. rhamnosus* GG y se midió la producción de IL-8 mediante ELISA y PCR. Concluyendo que la presencia de esta cepa de *Lactobacillus* spp. no afecta la viabilidad de las células y que bloquea significativamente la producción y activación de IL-8 ($p < 0,05$), atenuando así la inflamación local (Sang KL et al, 2012). También tendría un rol funcional en el balance de la expresión de mRNA IL-8 inducido por ácido lipoteicoico de *L. rhamnosus* GG (Lebeer S et al, 2012). Otro estudio buscaba evaluar el nivel de seguridad del uso de *L. rhamnosus* GG en adultos mayores estadounidenses durante 28 días de uso. Se encontró una relación entre el consumo del probiótico y una disminución significativa de la concentración de IL-8 en sangre a los 28 días de uso y que retornaba a sus niveles basales al día 56, asociándose el uso del probiótico con menores niveles plasmáticos de IL-8 y disminución de sintomatología inflamatoria (Hibberd PL et al, 2014). 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-1 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 y en el grupo 4 fueron cultivadas solo células de epitelio

gingival como control. 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 significativa de la secreción de IL-8, IL-6 e IL-1 β en las células del epitelio gingival en presencia de *P. gingivalis* (Zhao JJ et al, 2012).

Se puede ver que distintos estudios concluyen que el RAR y el uso de probióticos logran disminuir los niveles de IL-8, lo que hace pensar que ambos en conjunto podrían generar un efecto más favorable. En el presente estudio, al no observarse 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 FGC, como fue descrito en el estudio de Konopka L et al, 2012.

En relación a la IL-17, en este estudio se observó que hubo una disminución en ambos grupos, siendo significativa solo en el grupo placebo, al comparar la cuantificación de sus niveles en el día 0 y al finalizar la intervención. Sin embargo, al realizar la comparación entre ambos grupos al término del consumo de probiótico/ placebo, no hay una diferencia significativa de sus niveles. Al discutir los resultados obtenidos del ELISA de los niveles de IL-17, se puede observar que se condicen parcialmente con lo propuesto por la evidencia actual, la cual sugiere que el uso de probióticos logra generar modulación inmune generando una disminución de los niveles de IL-17 del FGC y una consecuente disminución de la inflamación y de la destrucción de tejido periodontal.

En el estudio realizado el 2014 por Szkaradkiewicz y colaboradores, fueron reclutados 38 pacientes adultos que presentaban periodontitis crónica moderada.

Se realizó una medición de los parámetros clínicos y se tomó una muestra del FGC de cada paciente y posteriormente se realizó el RAR. Los grupos fueron divididos en 2, el primer grupo fue conformado por 24 pacientes que recibieron el probiótico *L. reuteri* y el segundo grupo fue conformado por 14 individuos que recibieron un placebo, se les instruyó que ingirieran una pastilla 2 veces por día, durante 2 semanas. Dos semanas posteriores al término del consumo de ellas, se registraron nuevamente los parámetros clínicos e inmunológicos, los cuales fueron analizados dando como resultado una mejoría significativa de IS, PS y NIC de los pacientes de ambos grupos. A nivel inmunológico, el 75% de los individuos del grupo probiótico presentaron una disminución significativa de los niveles de TNF- α , IL-1 β y IL-17, llegando a la conclusión de que la cepa probiótica de *L. reuteri* induce una disminución en la respuesta de citoquinas pro-inflamatorias en la periodontitis crónica (Szkaradkiewicz AK et al, 2014). Así también, en el estudio realizado en 2011, por Zhao L y colaboradores fueron reclutados 30 pacientes que presentaban periodontitis crónica a los que se les midieron sus parámetros clínicos e inmunológicos en FGC, posterior a eso se les realizó RAR 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 FGC. Los resultados obtenidos mostraron una marcada disminución de las citoquinas pro-inflamatorias IL-17 e IL-21 en el FGC a las 6 semanas de realizado el tratamiento periodontal convencional (Zhao L et al, 2011).

Al comparar la evidencia que existe al respecto y los resultados de este estudio, se puede observar que el uso de la cepa probiótica *L. rhamnosus* SP1, como coadyuvante del tratamiento periodontal convencional, no genera una disminución significativa de los niveles de IL-17, por lo cual, en este estudio la disminución de estos niveles se atribuirían al RAR.

Al evaluar los resultados de la cuantificación de los niveles de hBD-3, se evidencia un aumento no significativo de ellos en el grupo experimental y en el grupo control, al comparar los niveles obtenidos en el día 0 y finalizada la intervención. Sin embargo al comparar ambos grupos en basal y a los 3 meses, esta diferencia no es significativa.

En el estudio realizado por Brancatisano y colaboradores, 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 FGC 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 es producida y liberada por el epitelio gingival en el surco gingival. Además, se observó en el grupo con periodontitis, una marcada reducción de los niveles de hBD-3 en la medida que aumentaba la severidad de la enfermedad. Lo que coincide con lo previamente descrito por Bissel y colaboradores en el 2004 y Dunsche en 2002 (Brancatisano FL et al, 2011, Bissel J et al, 2004; Dunsche A et al, 2002). Ésta marcada reducción podría estar relacionada con la capacidad de ciertos periodontopatógenos de inactivar los péptidos o disminuir proteolíticamente su expresión (Carlisle MD et al, 2009, Maisetta G et al, 2011). Cabe destacar que según un estudio *in-vitro*, la hBD-3 no tiene un efecto antibacteriano contra *L. rhamnosus* GG, en consecuencia, tampoco frente a su clon *L. rhamnosus* SP1, por esto quizás no hubo un aumento mayor de niveles de hBD-3 (Wang XF et al, 2015).

Para futuros estudios, se podría evaluar el tiempo de permanencia y colonización de *Lactobacillus* spp., ya que existen estudios con resultados contradictorios. En cuanto a la adhesión de *L. rhamnosus* GG, se ha visto que coloniza temporalmente las mucosas. En intestino por lo menos durante 1 semana posterior al discontinuar el consumo del probiótico (Alander M et al, 1999). Ahola y sus colaboradores, señalan que *L. rhamnosus* GG no sería capaz de colonizar permanentemente la cavidad oral, lo que se explica por el hecho de que no es originario de la boca, por lo que no se establece en ella (Ahola AJ et al, 2002). Sin embargo, en un estudio, un paciente que tenía historial médico de consumo de probióticos en su niñez, a la cual se le tomaron muestras salivales 5 meses después de haber dejado de consumir el *L. rhamnosus* GG en el estudio, tuvo persistencia este microorganismo, por lo que parece ser posible en casos individuales (Yli-Knuutila H et al, 2006).

Se debe recordar que los probióticos son cepa-específicos, es decir, cada cepa debe ser examinada y testeada por separado para analizar sus beneficios a la salud y los efectos que genere no pueden ser directamente aplicados a otras (de Vrese M y Schrezenmeir J, 2008). Es por eso que es necesario hacer más ensayos clínicos randomizados con probióticos al respecto.

Los resultados obtenidos de este estudio indican que *L. rhamnosus* SP1 no genera mejorías adicionales al RAR, como coadyuvante del tratamiento periodontal en pacientes con periodontitis crónica, por lo que se sugiere a futuro realizar estudios que puedan usar otros vehículos o bien con otras cepas. De modo de aumentar la evidencia que existe actualmente respecto a los probióticos y permitir determinar claramente qué probiótico es más efectivo para una enfermedad específica, en qué dosis y durante cuánto tiempo. Así en el futuro dejar de depender de los antibióticos que van generando mayor resistencia con el paso del tiempo.

CONCLUSIÓN

- La administración de *Lactobacillus rhamnosus* SP1 en forma adjunta a la terapia periodontal no quirúrgica en pacientes con periodontitis crónica tiene un efecto similar en la mejoría de los parámetros clínicos e inmunológicos al ser comparado con un grupo placebo, sin generar un beneficio adicional al RAR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. (2012) Inmunología celular y molecular. Séptima edición. Madrid, España. *Editorial Elsevier Saunders*. 55-108

Adriaens PA, Adriaens LM. (2005) Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000*, 11:121-145.

Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman JH, Korpela R. (2002) Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol*. 47:799-804.

Alander M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A. (1999) Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. *Appl Environ Microbiol*. 65:351-4.

American Academy of Periodontology (2000a). Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. *J Periodontol* 71:853-855.

American Academy of Periodontology (2000b). Parameter on chronic periodontitis with advance loss of periodontal support. *J Periodontol* 71:856-858

Aminabadi, N.A.; Erfanparast, L.; Ebrahimi, A.; Oskouei, S.G. (2011) Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli probiotic in six- to twelve-year-old children: A randomized controlled trial. *Caries Res*. 45, 148–154.

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

Azad MB, Coneys JG, Kozyrskyj AL, Field CJ, Ramsey CD, Becker AB, et al. (2013) Probiotic supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of asthma and wheeze: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 347:f6471

Bissell J, Joly S, Johnson GK, Organ CC, Dawson D, McCray PB Jr, et al. (2004) Expression of beta-defensins in gingival health and in periodontal disease. *J Oral Pathol Med*, 33:278-285.

Brancatisano F.L., Maisetta G, Barsotti F, Esin S, Miceli M, Gabriele M, Giuca MR, Campa M and Batoni G. (2011) Reduced Human Beta Defensin 3 in Individuals with Periodontal Disease. *J Dent Res* 90:241.

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

Carlisle MD, Srikantha RN, Brogden KA. (2009) Degradation of alpha- and beta-defensins by culture supernatants of *Porphyromonas gingivalis* strain 381. *J Innate Immun* 1: 118–122.

Chung RM, Grbic JT, Lamster IB. (1997) Interleukin-8 and betaglucuronidase in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 24:146-152.

Consensus report. (1996) Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*. 1:926-32

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

de Vrese M, Schrezenmeir J. (2008) Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 111:1-66

Diamond DL, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Ganz T, Dale BA. (2001) Detection of β defensins secreted by human oral epithelial cells. *J Immunol Methods* 256:65-67

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

Dunsche A, Acil Y, Dommisch H, Siebert R, Schroder JM, Jepsen S. (2002) The novel human beta-defensin-3 is widely expressed in oral tissues. *Eur J Oral Sci* 110:121-124.

Dutzan N, Gamonal J, Silva A, Sanz M, Vernal R. (2009) Over-expression of forkhead box P3 and its association with receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, interleukin (IL) -17, IL-10 and transforming growth factor-beta during the progression of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 36:396-403.

Ebrahem MA. (2013) Expression of human beta defensins (HBDs) 1, 2 and 3 in gingival crevicular fluid of patients affected by localized aggressive periodontitis. *Saudi Dent J.* 25:75-82

Elazab N, Mendy A, Gasana J, Vieira ER, Quizon A, Forno E. (2013) Probiotic administration in early life, atopy, and asthma: a meta-analysis of clinical trials. *Pediatrics* 132:e666-76. 51.

Espinoza I, Thomson WM, Gamonal J, Arteaga O. (2013) Disparities in aspects of oral health-related quality of life among Chilean adults. *Community Dental Oral Epidemiol.* 41:242-250.

Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. (2002) Guidelines for the evaluation of probiotics in food. *Joint FAO/WHO Working group Report of Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.*

Gamonal J, López NJ, Aranda W. (1998) Periodontal conditions and treatment needs, by CPITN, in the 35-44 and 65-74 year-old population in Santiago, Chile. *International Dental Journal* 48:96-73

Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. (2000) Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol* 71: 1535-1545.

Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. (2001) Characterization of cellular infiltrate, detection of chemokine receptor CCR5 and interleukin-8 and RANTES chemokines in adult periodontitis. *J Periodontal Res.* 36: 194-203.

Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzúa I, Aranda W, Carvajal P, Arteaga O. (2010) Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J Periodontol.* 81:1403-10.

Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. (2002) Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med* 13:17-34.

Goodson JM. (1992) Diagnosis of periodontitis by physical measurement: Interpretation from episodic disease hypothesis. *J Periodontol* 63: 373-382

Graves DT. (1999) The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression. *Clin Infect Dis.* 28: 482-490

- Graves, DT. (2008) Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 79, 1585- 1591.
- Gursoy UK, Kononen E. (2012) Understanding the roles of gingival betadefensins. *J Oral Microbiol* 4: 1–10
- Hanchak, N. A., Patel, M. B., Berlin, J. A. & Strom, B. L. (1996) Patient misunderstanding of dosing instructions. *Journal of General Internal Medicine* 11, 325–328.
- Haffajee, A.D., Socransky, S.S. & Gunsolley, J.C., (2003) Systemic Anti-Infective Periodontal Therapy. A Systematic Review. *Ann Periodontol.* 8:115-8
- Haffajee AD, Torresyap G, Socransky SS. (2007) Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1-year results. *J Clin Periodontol*, 34:243-253
- Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. (2001) Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem* 276: 5707–5713.
- Harini, P. M., Anegundi, R. T. (2010) Efficacy of a probiotic and chlorhexidine mouth rinses: a short-term clinical study. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 28, 179–182
- Hastings C. (2002) Tratamiento periodontal no quirúrgico. *Periodontol 2000*, 1:77-88
- Haukioja A. (2010) Probiotics and oral health. *Eur J Dent.* 4:348-55
- Herrera, D. et al. (2002), A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 29 pp.136-59
- Hibberd PL, Kleimola L, Fiorino AM, Botelho C, Haverkamp M, Andreyeva I, Poutsiaka D, Fraser C, Solano-Aguilar G, Snyderman DR. (2014) No evidence of harms of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 in healthy elderly-a phase I open label study to assess safety, tolerability and cytokine responses. *PLoS One.* 9:e113456.
- Higgins JPT, Green S. (2011) Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. Version 5.1.0. *The Cochrane Collaboration.*

Hosokawa I, Hosokawa Y, Komatsuzawa H, Goncalves RB, Karimbux N, Napimoga MH, et al. (2006) Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. *Clin Exp Immunol* 146: 218-25

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

Inoue Y, Kambara T, Murata N, Komori-Yamaguchi J, Matsukura S, Takahashi Y, Ikezawa Z, Aihara M. (2014) Effects of oral administration of Lactobacillus acidophilus L-92 on the symptoms and serum cytokines of atopic dermatitis in Japanese adults: a double-blind, randomized, clinical trial. *Int Arch Allergy Immunol.*165:247-54

Jindal, G.; Pandey, R.K.; Agarwal, J.; Singh, M. (2011) A comparative evaluation of probiotics on salivary mutans streptococci counts in Indian children. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* 12, 211–215.

Juneja, A.; Kakade, A. (2012) Evaluating the effect of probiotic containing milk on salivary mutans streptococci levels. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 37, 9–14.

Kang, M. S., Chung, J., Kim, S. M., Yang, K. H. & Oh, J. S. (2006) Effect of Weissella cibaria isolates on the formation of Streptococcus mutans biofilm. *Caries Research* 40 418–425.

Kisich KO, Howell MD, Boguniewicz M, Heizer HR, Watson NU, Leung DYM. (2007) The constitutive capacity of human keratinocytes to kill Staphylococcus aureus is dependent on β -defensin 3. *J Invest Dermatol* 127:2368–80

Köll-Klais P, Mändar R, Leibur E, et al. (2005) Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol* 20: 354-61.

Konopka L, Brzezinska- Blaszczyk E. (2012) 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 Res* 47:681-688.

Kornman KS. (2008) Mapping the pathogenesis of periodontitis: A new look. *J Periodontol*, 79:1560-1568

- Kramer JM, Gaffen SL. (2007) Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. *J Periodontol* 78:1083-93.
- Kruse, W., Eggert-Kruse, W., Rampmaier, J., Runnebaum, B. & Weber, E. (1993) Compliance and adverse drug reactions: a prospective study with ethinylestradiol using continuous compliance monitoring. *The Clinical Investigator* 71, 483–487.
- Krasse, P., Carlsson, B., Dahl, C., Paulsson, A., Nilsson, A. & Sinkiewicz, G. (2005) Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swedish Dental Journal* 30, 55–60.
- Lang NP. (1990) Epidemiology of periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 35 Suppl: 9S-14S.
- Lebeer S, Claes I, Tytgat HL, Verhoeven TL, Marien E, von Ossowski I, Reunanen J, Palva A, Vos WM, Keersmaecker SC, Vanderleyden J. (2012) Functional analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells. *Appl Environ Microbiol.* 78:185-93.
- Lee SH, Jun HK, Lee HR, Chung CP, Choi BK. (2010) Antibacterial and lipopolysaccharide (LPS)-neutralising activity of human cationic antimicrobial peptides against periodontopathogens. *Int J Antimicrob Agents*, 35: 138–145.
- Listgarten MA. (1976) Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol* 47: 1–18.
- López NJ, Mellado JC, Leighton GX. (1996) Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol.* 23:101-5)
- López NJ. (2000) Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in progressive adult periodontitis. *J Periodontol.* 71:948-54.
- López NJ, Socransky S, Silva I, Japlit MR, Haffajee A. (2004) subgingival microbiota de los pacientes chilenos con periodontitis crónica *J Periodontol* 75:717-25.
- López-Píriz R, Aguilar, L, Giménez, MJ. (2007) Management of odontogenic infection of pulpal and periodontal origin. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 12:154-9.
- Lu Q, Jin L, Darveau RP, Samaranayake LP. (2004) Expression of human β -defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. *J Periodontol Res* 39:221-227.

- Ma D, Forsythe P, Bienenstock J. (2004) Live *Lactobacillus reuteri* is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. *Infect Immunol* 72: 5308.
- Maekawa T, Hajishengallis G. (2014) Topical treatment with probiotic *Lactobacillus brevis* CD2 inhibits experimental periodontal inflammation and bone loss. *J Periodont Res* 49: 785-791.
- Maisetta G, Brancatisano FL, Esin S, Campa M, Batoni G. (2011) Gingipains produced by *Porphyromonas gingivalis* ATCC 49417 degrade human hBD-3 and affect peptide's antibacterial activity in vitro. *Peptides* 32: 1073–1077.
- Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, Murray CJ. (2013) Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 92:592-7
- Marsh PD. (2003) Are dental diseases examples of ecological catastrophes?. *Microbiology* 149:279-294.
- Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y, Shimauchi H. (2009) Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21 containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*.36:506-13.
- McCormick TS, Weinberg A. (2010) Epithelial cell-derived antimicrobial peptides are multifunctional agents that bridge innate and adaptive immunity. *Periodontol* 2000 54: 195–206.
- Nackaerts O, Jacobs R, Quirynen M, Rober M, Sun Y, Teughels W. (2008) Replacement therapy for periodontitis: pilot radiographic evaluation in a dog model. *J Clin Periodontol*. 35:1048-52
- Otte JM, Werner I, Brand S, Chromik AM, Schmitz F, Kleine M, et al. (2008) Human beta defensin 2 promotes intestinal wound healing in vitro. *J Cell Biochem* 104: 2286-97.
- Paes, A. H., Bakker, A. & Soe-Agnie, C. J. (1997) Impact of dosage frequency on patient compliance. *Diabetes Care* 20, 1512–1517.
- Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. (2006) Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol* 100:1171-1185.

Plaza-Diaz J, Gomez-Llorente C, Fontana L, Gil A. (2014) Modulation of immunity and inflammatory gene expression in the gut, in inflammatory diseases of the gut and in the liver by probiotics. *World J Gastroenterol*. 20:15632-49

Riccia, D. N., Bizzini, F., Perilli, M. G., Polimeni, A., Trinchieri, V., Amicosante, G. & Cifone, M. G. (2007). Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease. *Oral Diseases* 13, 376–385.

Sang Kil Lee, Kyung Min Yang, Jae Hee Cheon, Tae Il Kim and Won Ho Kim, (2012) Anti-inflammatory Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Lipopolysaccharide stimulated HT-29 Cell, *Korean J Gastroenterol* 60:86-93

Scott MG, Yan H, Hancock RE. (1999) Biological properties of structurally related alpha-helical cationic antimicrobial peptides. *Infect Immun* 1999, 67: 2005– 2009.

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

Sochacki KA, Barns KJ, Bucki R, Weisshaar JC. (2011) Real-time attack on single *Escherichia coli* cells by the human antimicrobial peptide LL-37. *Proc Natl Acad Sci* 108: 77–81.

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

Sookhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. (2001) Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J Appl Microbiol* 90: 172-9

Szkaradkiewicz AK., Stopa J., Karpiński TM. (2014) 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*. 62:495-500.

Teanpaisan R, Piwat S, Dahle G. (2011) Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 53:452-9

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

- Teles, R.P., Haffajee, A.D. & Socransky, S.S. (2006) Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontology 2000*. 42, pp.180-218.
- Teughels, W., Newman, M. G., Coucke, W., Haffajee, A. D., van der Mei, H. C., Haake, S. K., Schepers, E., Cassiman, J. J., Van Eldere, J., van Steenberghe, D. & Quirynen, M. (2007) Guiding periodontal pocket recolonization: a proof of concept. *Journal of Dental Research* 86, 1078–1082.
- Teughels, W., Van Essche, M., Sliepen, I. & Quirynen, M. (2008). Probiotics and oral healthcare. *Periodontology 2000* 48, 111–147.
- Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC (2013). Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 40:1025-35.
- Tonetti MS, Imboden MA, Lang NP (1998). Neutrophil migration into the gingival sulcus is associated with transepithelial gradients of interleukin-8 and ICAM-1. *J Periodontol*. 69:1139-47.
- Tonetti MS, Chapple IL; (2011) Working Group 3 of Seventh European Workshop on Periodontology .Biological approaches to the development of novel periodontal therapies--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 38 Suppl 11:114-8.
- Twetman, S., Derawi, B., Keller, M., Ekstrand, K.,Yucel-Lindberg, T. & Stecksén-Blicks, C. (2009). Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontologica Scandinavica* 67, 19–24.
- Van der Velden U. (2005) Purpose and problems of periodontal disease classification. *Periodontol 2000*. 39:13-21.
- Vankeerberghen A, Nuytten H, Dierickx K, Quirynen M, Cassiman J-J, et al. (2005) Differential induction of human beta-defensin expression by periodontal commensals and pathogens in periodontal pocket epithelial cells. *J Periodontol* 76: 1293–1303.
- Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Antonieta Valenzuela M, Gamonal J. (2005) 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* 32:383-9.

- Vernal R y García-Sanz JA. (2008). Th17 and Treg cells, two new lymphocyte subpopulations with a role in the immune response against infection. *Infect Disord Drug Targets* 8:207-220
- Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L. (2013) Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. *Acta Odontol Scand.* 71:813-9.
- Vivekananda, MR; Vandana KL; Bhat KG. (2010) Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *Journal of Oral Microbiology* 2: 5344
- Wang XF, Tian F, Cao RM, Li J, Wu SM, Guo XK, Chen TX. (2015). Antimicrobial activity of human β -defensins against lactic acid bacteria. *Nat Prod Res.* 29:2164-6
- Yanine N, Araya I, Brignardello-Petersen R, Carrasco-Labra A, Villanueva J, González A, Preciado A, Sanz M, Martin C. (2013). Effects of probiotics in periodontal diseases: a systematic review. *Clin Oral Invest* 17:1627-1634.
- Yli-Knuutila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. (2006). Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol.* 21:129-31
- Zhao L, Zhou Y, Xu Y, Sun Y, Li L, Chen W. (2011) 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* 38:509-516.
- Zhao JJ, Feng XP, Zhang XL, Le KY. (2012) Effect of *Porphyromonas gingivalis* and *Lactobacillus acidophilus* on secretion of IL1B, IL6, and IL8 by gingival epithelial cells. *Inflammation.* 35:1330-7.

ANEXOS

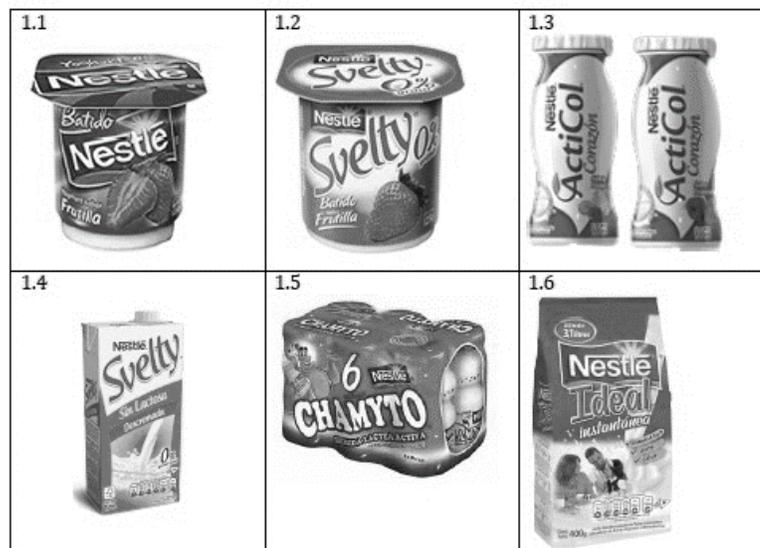
Anexo 1: Formulario de hábitos alimenticios

FORMULARIO DE HÁBITOS ALIMENTICIOS

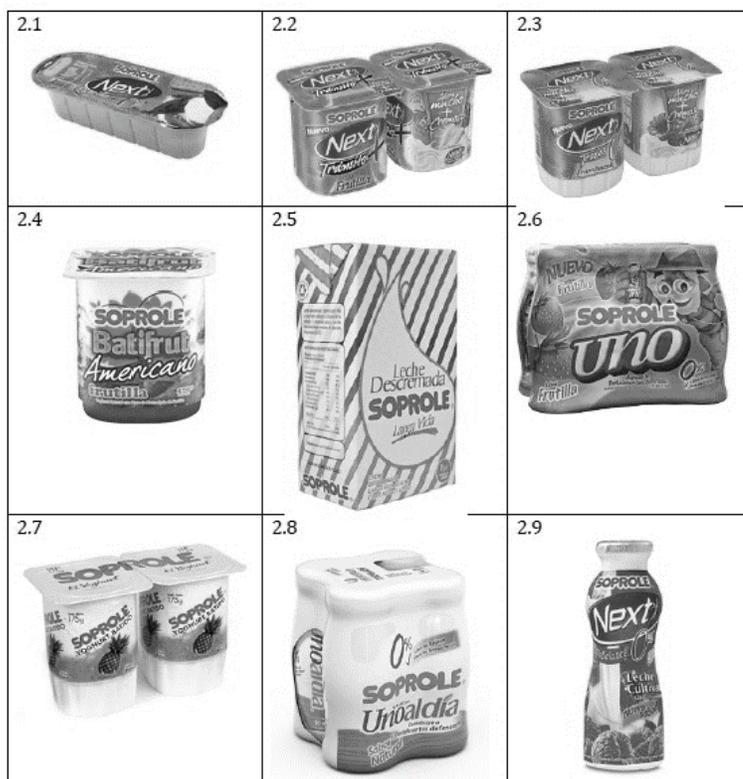
Instrucciones:

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



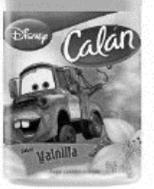
2. PRODUCTOS SOPROLE



3. PRODUCTOS LONCOLECHE



4. PRODUCTOS DANONE

4.1 	4.2 	4.3 
4.4 	4.5 	4.6 
4.7 	4.8 	4.9 

5. PRODUCTOS COLUN

<p>5.1</p> 	<p>5.2</p> 	<p>5.3</p> 
<p>5.4</p> 	<p>5.5</p> 	<p>5.6</p> 
<p>5.7</p> 	<p>5.8</p> 	<p>5.9</p> 

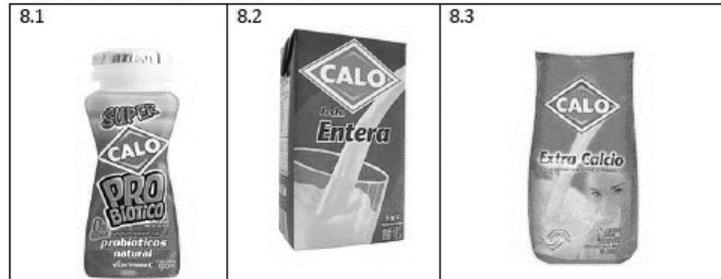
6. PRODUCTOS QUILLAYES

<p>6.1</p> 	<p>6.2</p> 	<p>6.3</p> 
<p>6.4</p> 	<p>6.5</p> 	<p>6.6</p> 

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
-----	-----	-----

Anexo 2: Sondeo Inicial. Reclutamiento de pacientes

Día Mes Año

--	--	--	--	--

Número de Ingreso

--	--	--	--

INFORMACIÓN GENERAL

Nombre:

	SI	NO
Enfermedad Sistémica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tratamiento Periodontal Previo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Embarazo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Polimedicamentos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

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	S1	S2	S3	Si EPB <3 (PS≤3mm) → IG Si EPB >3 (PS>4mm) ↓	IG	16 V	11V	26 V	Promedio
	S6	S5	S4		<input type="checkbox"/>	46 L	31 V	36 L	

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

	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	26	7
	47	46	45	44	43	42	41	40	39	38	37	36	35	34	33	32	31	36	7

SANGRADO

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

Examinar 6 sitios por diente

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"/>

**INFORMACION
COMPLEMENTARIA**

1 Número de dientes
perdidos:

Motivo de la pérdida de
dientes:

.....
.....

Por
caries
Por
suelos
Por indicación de
ortodoncia

2 Tratamiento previo de
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

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.

Anexo 5: Consentimiento informado



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Odontología – Departamento de Odontología Conservadora
Ed: 12/09/2012

Facultad de Odontología
Universidad de Chile

Proyecto de Investigación Fondecyt
Académico Responsable: Jorge Gamonal

CONSENTIMIENTO INFORMADO – ADULTOS

Antecedentes Generales

Usted ha sido invitado a participar voluntariamente en un estudio patrocinado por Fondecyt Regular, 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 enfermedades periodontales (gingivitis y periodontitis) corresponden 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 involucrados en inflamación.

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. En el presente estudio habrá un grupo placebo, y las personas afectadas por gingivitis o periodontitis recibirán tratamiento estándar o experimental con probióticos.

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 de 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 la unión de la encía con el diente) 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 (microorganismos vivos que al ingerirse ejercen efectos benéficos para la salud) 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

Dpto. de Odontología Conservadora/Olivos N°943, Independencia ☎: 97818



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 perjuicio de su tratamiento odontológico. En este caso, sólo se estudiarán las muestras obtenidas con anterioridad al retiro del sujeto.

Los pacientes que luego de ingresar al estudio manifiesten después del análisis clínico que no han obtenido la mejoría deseada, serán atendidos profesionalmente sin costo alguno por los profesionales integrantes del proyecto de investigación.

Beneficios de participar en el estudio

Como ventaja de participar en el presente estudio, a todos los pacientes participantes del mismo se les hará entrega de todos los elementos necesarios para la higiene bucal (cepillo dentario, cepillo interproximal, seda y enjuagatorios).

Otra ventaja es que se les dará a conocer y se consignará en su ficha clínica los resultados de los análisis que resultan de las muestras biológicas tomadas a los pacientes.

En relación con el tratamiento periodontal, en el tratamiento realizado por el suscrito, se hará una rebaja de un 50% del arancel que la Facultad tiene dispuesto cobrar para tales efectos.

Riesgos de participar el estudio

La desventaja de participar en el presente estudio, es que los pacientes seleccionados serán sometidos a la toma de muestra de fluido gingival crevicular y de placa bacteriana (que no requiere anestesia, y es inocua para el paciente).

En caso de alguna dificultad, los teléfonos de contacto del investigador responsable: Jorge Gamonal, son: 9781839, 9781838, y 2324232.

En la situación de tener un imprevisto gastrointestinal por el uso de probióticos, contactarse con el Investigador Principal, quién derivará inmediatamente al Dr. José Manuel Manríquez, integrante del presente proyecto de investigación.

Se señala además que en el presente estudio no hay retribución económica.





UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Odontología – Departamento de Odontología Conservadora
Ed: 12/09/2012**FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Declaro haber comprendido las explicaciones que se me han facilitado, en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo me ha permitido realizar todas las observaciones y preguntas necesarias, resolviéndome todas las dudas que le he planteado, señalándome además que habrá absoluta confidencialidad en los datos por mi entregados.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto para participar en el presente Proyecto de Investigación, y que frente a cualquier duda puedo además consultar con el Presidente del Comité de Ética de la Facultad de Odontología, Dr. Juan Cortés, en el fono: 9781701.

Además, se me ha aclarado, que en caso de no dar mi consentimiento, el profesional procederá de todas maneras a realizar el mencionado tratamiento periodontal.

Identificación Paciente

Nombre: _____

Rut: _____

Fono: _____

Firma _____ Fecha: _____

Identificación Testigo

Nombre _____

Fono: _____

Firma _____ Fecha: _____

Identificación del investigador que toma el CI

Nombre _____

Fono: _____

Firma _____ Fecha: _____

Identificación Inv. Resp.

Nombre: _____

Fono: _____

Firma _____ Fecha: _____



Dpto. de Odontología Conservadora/Olivos N°943, Independencia ☎: 9781839/Casilla 1903

