



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA EN LA
ENFERMEDAD PERIODONTAL.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

XOCHIQUETZALLI GONZÁLEZ CHÁVEZ

TUTORA: Mtra. ANA PATRICIA VARGAS CASILLAS

MÉXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



A la Universidad Nacional Autónoma de México, por alojarme en sus instalaciones lo que es y será un privilegio.

A la Facultad de Odontología, por darme los conocimientos y herramientas para desenvolverme como una gran profesionalista.

A mis padres, por fomentar en mí el deseo de superación y estudio que me hace seguir siempre hacia adelante, gracias a su apoyo, cariño y amor hoy puedo alcanzar esta meta.

A mis hermanas, tías y abuelita por su apoyo incondicional.

A Julio por estar en todo momento a mi lado apoyándome, gracias por acompañarme en esta etapa y darme tu cariño y comprensión.

A todas aquellas personas que tuve la fortuna de conocer en la universidad y dejan en mi camino un gran recuerdo de estudiante, gracias por su amistad y cariño.



A mis doctores, por compartirme sus conocimientos y experiencia.

A la doctora Ana Patricia Vargas Casillas, por su disposición y apoyo brindado para la realización de esta tesina.

Al doctor Ismael Flores Sánchez por los artículos proporcionados los cuales fueron de gran ayuda.

Y sobre todo gracias a Dios que me permite vivir para hacer realidad mis sueños.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	7
2. PROPÓSITO	9
3. OBJETIVOS	9
4. ASPECTOS HISTÓRICOS DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA	10
5. MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA	17
5.1. Acción fotofísica	18
5.2. Acción bactericida	21
6. AGENTES FOTOSENSIBILIZANTES UTILIZADOS EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA	27
6.1. Definición de fotosensibilizante	27
6.2. Características ideales	27
6.3. Tipos de fotosensibilizantes antimicrobianos	28



7. LASERS DE USO ODONTOLÓGICO	38
7.1. Definición de laser	38
7.2. Física del laser	38
7.3. Laser en la terapia fotodinámica antimicrobiana	40
7.3.1. Laser de Helio-Neón	42
7.3.2. Diodo laser	43
7.3.3. Laser de Argón	45
7.3.4. Otras fuentes utilizadas	45
8. TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA Y SU USO EN ODONTOLOGÍA	47
9. TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	50
9.1. Ventajas y desventajas	52
9.2. Modo de uso	52
9.3. Riesgos y efectos secundarios	56
9.4. Efectos <i>in vitro</i> de la terapia fotodinámica antimicrobiana en la biopelícula dental	57
9.5. Efectos <i>in vivo</i> de la terapia fotodinámica antimicrobiana en la enfermedad periodontal	66
9.6. Efectos clínicos de la terapia fotodinámica antimicrobiana en la enfermedad periodontal	69



10. SISTEMAS PARA LA APLICACIÓN DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA	75
10.1. Sistema Helbo®	75
10.2. Sistema Periowave™	78
11. CONCLUSIONES	80
12. FUENTES DE INFORMACIÓN	82

1. INTRODUCCIÓN.

Los antecedentes de la terapia fotodinámica (TFD) datan desde los antiguos egipcios pero la reacción fotodinámica como tal fue descubierta a principios del siglo XX y fue aplicada en el campo de la medicina para la inactivación de células, microorganismos o moléculas por medio de la inducción de luz. Sin embargo, desde la mitad del siglo pasado, la terapia fotodinámica fue olvidada debido al descubrimiento de los antibióticos dando paso a la llamada “época de oro” de los antibióticos. Cuando el problema de resistencia bacteriana se hizo evidente, se buscaron nuevas estrategias; así es que en 1990 se retomó el uso de la terapia fotodinámica (TFD), como tratamiento antimicrobiano.

En la TFD interactúan tres componentes no tóxicos: una fuente de luz visible; un agente fotosensibilizante y oxígeno. Consiste en la administración de un agente fotosensibilizante sobre el tejido afectado ya sea de forma tópica, en aerosol o por inyección intersticial, seguida de la aplicación de una dosis lumínica de longitud de onda determinada (dependiendo el tipo de laser; laser de helio-neón 633 nm, diodo laser de arseniuro de galio-aluminio 630-690 nm, 830 ó 906 nm, ó laser de argón 488-514 nm) para activar el fotosensibilizante y producir oxígeno singlete y otros agentes reactivos los cuales son altamente tóxicos para ciertos tipos de células y bacterias.

La terapia fotodinámica se ha utilizado en diferentes campos de la medicina con diferentes propósitos; uno de ellos es en el tratamiento del cáncer; en donde se ha demostrado la afinidad que tienen las células tumorales al

fotosensibilizante, que al reaccionar con la luz produce efectos citotóxicos que pueden ocasionar la muerte celular o en la destrucción del tejido por medio de varios mecanismos como: necrosis por coagulación, inducción de apoptosis, microtrombosis de vasos tumorales neoformados e inflamación intensa de la zona tratada por liberación de factores vasoactivos y procoagulantes como el factor de activación plaquetaria y el tromboxano A₂.

Otro de los propósitos de la TFD está dirigido hacia los microorganismos bucales. Los microorganismos son un importante objetivo en el tratamiento de las infecciones locales orales. A principios de los años 90's se comenzaron a realizar los estudios para su introducción como una alternativa en el tratamiento de las infecciones orales ó enfermedades asociadas a la placa bacteriana. La desactivación de los microorganismos usando la TFD es conocida como terapia fotodinámica antimicrobiana, quimioterapia fotodinámica antimicrobiana, desinfección fotodinámica o fotosensibilización letal.

La TFD se introdujo para el tratamiento de las infecciones periodontales debido a su simplicidad, eficacia y el efecto bactericida que posee. La TFD antimicrobiana puede ser utilizada, aún en sitios en donde el acceso con instrumentos mecánicos es limitado, debido a la complejidad anatómica de las raíces en donde pueden encontrarse bacterias remanentes. Aunado a esto, el efecto antimicrobiano puede ser controlado por medio de la cantidad de la luz aplicada para activar la reacción, por lo tanto las bacterias pueden ser inactivadas en un período de tiempo relativamente corto y sin afectación de los tejidos circundantes.



2. PROPÓSITO.

Realizar una revisión bibliográfica acerca de la terapia fotodinámica antimicrobiana como tratamiento adicional al tratamiento periodontal convencional.

3. OBJETIVOS.

1. Presentar el mecanismo de acción de la terapia fotodinámica antimicrobiana.
2. Exponer los tipos de agentes fotosensibilizantes y el tipo de luz de uso común de la terapia fotodinámica antimicrobiana como tratamiento adicional de la enfermedad periodontal.
3. Conocer el uso de la terapia fotodinámica antimicrobiana en el tratamiento de la enfermedad periodontal.
4. Mostrar los resultados obtenidos con la terapia fotodinámica antimicrobiana como coadyuvante en el tratamiento periodontal.

4.ASPECTOS HISTÓRICOS DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA.

La historia de la terapia fotodinámica se remonta a los egipcios los cuales utilizaban sustancias vegetales que producían fotorreacciones en los tejidos. Estas sustancias eran empleadas principalmente en el tratamiento de lesiones despigmentadas de la piel (vitíligo), las cuales eran vistas como manifestaciones de lepra. Los egipcios usaban fotosensibilizantes psoralenos que son un tipo de furocumarina (sustancias vegetales que son sensibles a la luz o que se pueden activar con la luz), los cuales se encontraban en diferentes plantas como la chirivía, el perejil y la hierba de San Juan. Se preparaba un polvo con estas plantas y se aplicaban en las zonas despigmentadas, después de esto la persona tenía que exponerse a la luz del sol. Los rayos solares activaban al fotosensibilizante y como resultado, la lesión se pigmentaba. Este efecto era similar a un bronceado.¹

Otros documentos en donde se reporta el uso de esta terapia son el Papiro de Ebers y los libros sagrados del hinduismo como el Átharva Vedá, en donde el tratamiento fotodinámico también era utilizado en personas con problemas de despigmentación de la piel, muchas de las cuáles eran vitíligo.

De acuerdo a la literatura médica de la India antigua, la aplicación de semillas negras de la planta Bavachee o Vasuchika era seguida de la exposición a la luz solar. Esta planta fue identificada como *Psoralea corylifolia*, la cual contiene psoralenos, que son fotosensibilizantes anaerobios. La misma planta es mencionada en libros budísticos escritos en el año 200 A.C. y en los libros chinos escritos en el siglo X D.C. como tratamiento para el vitíligo. Ibn El Bitar, en su libro 'Mofradat Al Adwiya' (siglo

XIII) describe un remedio contra el vitíligo que consistía en una tintura de miel, y polvo de semillas de una planta llamada “Aatrillal”, la cual era abundante en el valle del río Nilo. Esta planta ha sido identificada como *Ammi majus* y contiene diferentes tipos de psoralenos. Su vía de administración no era solamente tópica sino que también era administrada en forma oral. Después de su aplicación local el paciente tenía que lamer la mezcla y después de esto exponerse a la luz del sol durante una o dos horas. La luz solar activaba a los psoralenos y se presentaba la reacción fotodinámica con la presencia de una vesiculización seguida de una reepitelización y repigmentación.² Las furocumarinas encontradas en las plantas antes mencionadas hacen a la piel fotosensitiva y además estimulan la producción de melanina, lo cual favorece a la pigmentación de la piel.¹

La reacción fotodinámica oxígeno-dependiente fue descubierta por Oscar Raab, quien realizó la primera publicación acerca del tema en 1900. Raab era estudiante del Instituto de Farmacología de la Universidad de Múnich y observó el efecto citotóxico de la luz y los colorantes, al estar trabajando con protozoarios ciliados (paramecios) los cuales se encontraban en aguas estancadas (Figura 1). Él observó que la tintura de acridina mataba a los paramecios cuando había exposición a la luz solar y los protozoarios dejaban de moverse. Este efecto no sucedía en ausencia de luz. Una propiedad específica de la tintura de acridina es la absorción y la fluorescencia. Dado que la absorción no representaba toxicidad, la fluorescencia fue considerada como la propiedad más dañina en el proceso de la muerte celular. Tras varias investigaciones Raab concluyó que los sustratos fluorescentes, como el de la tintura de acridina, debían convertir la energía de la luz en una energía química altamente activa, la cual mataba a los protozoarios. La energía química activa formó la base de la terapia fotodinámica.²

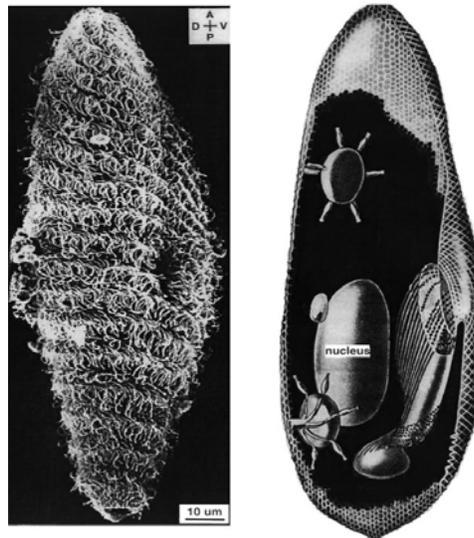


Figura 1. Paramecia Aurelia.²

Con base en esto H. Von Tappeiner, reportó que los efectos tóxicos en la presencia de luz no eran debido a la temperatura, a su parecer la actividad química de la luz siempre estaba relacionada con la absorción. Una parte de la luz absorbida era convertida de una longitud de onda a otra. Después de varios experimentos, con el fin de excluir la influencia directa de la luz, Tappeiner introdujo el término de “reacción fotodinámica”, en 1904.^{3, 4}

En 1908, Hausmann reportó por primera vez la fototoxicidad de la hematoporfirina, la cual es un efectivo fotosensibilizante de los paramecios y los eritrocitos. En 1910 Hausmann realizó experimentos con ratones; a los que les inyectaba hematoporfirina seguida de la exposición a la luz solar. Los ratones mostraron diferentes reacciones dependiendo de las dosis del fotosensibilizante y de luz. Hausmann dio la hipótesis de que el efecto primario de la terapia fotodinámica estaba asociado con el daño causado en las venas periféricas.²

Otro paso importante en la historia de la terapia fotodinámica sucedió en 1912, cuando Friedrich Meyer-Bertz, se inyectó a sí mismo 0.2 gramos de hematoporfirina y se expuso a la luz para demostrar la fotosensibilidad. La cual se manifestó por medio de hiperpigmentación y edema durante 2 meses. Estudios posteriores confirmaron que la administración sistémica de hematoporfirina producía una fotosensibilización de color violeta en varios tejidos, incluyendo el cutáneo. (Figura 2).¹

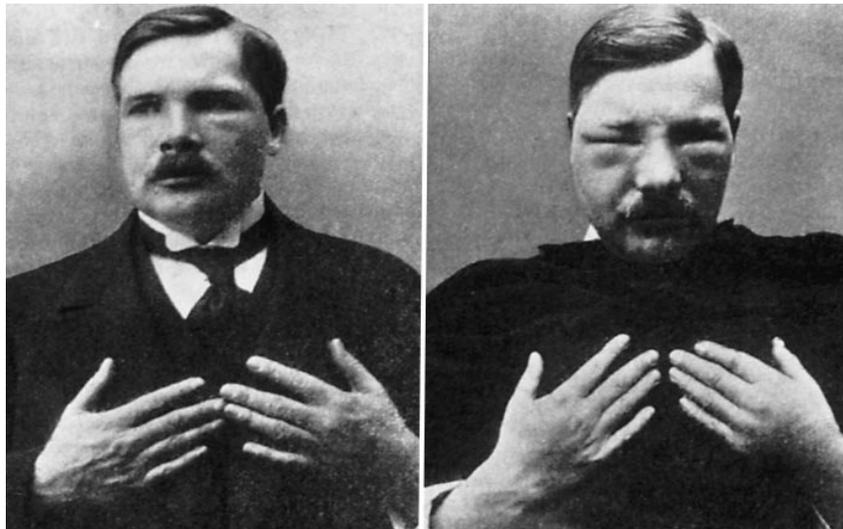


Figura 2. F. Meyer-Bertz antes y después de la aplicación intravenosa de 200 gr de hematoporfirina y la reacción causada por la reacción solar.²

Investigaciones posteriores se dedicaron a encontrar las propiedades de los fotosensibilizantes y su mecanismo de acción, proponiéndose su uso principalmente para diagnóstico y tratamiento del cáncer debido a la marcada afinidad que presentaban los fotosensibilizantes hacia los tejidos proliferativos.

Mientras que el propósito de los primeros estudios era el diagnóstico fotomédico tumoral, los primeros experimentos encaminados a la destrucción fotodinámica de los tumores comenzaron en 1966. R.L. Lipson y colaboradores, aprovecharon la propiedad de selectividad de los tumores hacia el porfímero sódico (HpD) que era la forma más fotosensible de los derivados de la hematoporfirina IX para su destrucción. La destrucción fue conseguida gracias a las propiedades fotodinámicas del HpD. La investigación se realizó en una mujer con cáncer de mama a la cual se le inyectó el derivado de hematoporfirina en repetidas ocasiones y se realizó la exposición local del tumor por medio de una luz filtrada, se desconoce el espectro de radiación. Sus resultados fueron publicados en un congreso Internacional de Cáncer en Tokio en 1966.²

En 1978 Dougherty y colaboradores tras varias investigaciones realizadas en lesiones malignas cutáneas y subcutáneas con HpD, reportaron que los tumores de mayor tamaño o muy pigmentados requerían dosis más altas de HpD. El daño a la piel sana adyacente se limitaba reduciendo las dosis lumínicas o extendiendo los intervalos de tiempo entre las inyecciones y la aplicación de la luz. Reportaron el láser como una fuente alternativa a la lámpara de arco y utilizaron un compuesto de argón con un sistema de alumbramiento por medio de fibras ópticas para el tratamiento de lesiones sarcoma-osteogénicas con la terapia fotodinámica. La mayor ventaja del láser, no es su intensidad ni la longitud de onda, sino la flexibilidad de uso que tiene. En 1982, se uso por primera vez el láser rojo para el tratamiento de cáncer endobronquial, por medio de una fibra de cuarzo insertada a través de una fibra óptica.²

Debido a que la fotosensibilidad tiene un rol importante en la terapia fotodinámica se buscaron fotosensibilizantes más eficientes y con un tiempo corto de eliminación. En 1984 Dougherty, analiza y aísla un componente de la hematoporfirina, designando al compuesto como dihematoporfirina éter, el cual se convirtió en el sensibilizador más común para investigaciones clínicas. Este fue aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) en 1984 con el nombre de “Photofrin”.²

El desarrollo de nuevos fotosensibilizantes y estudios acerca de la terapia fotodinámica progresaron con el tiempo para la aplicación de esta terapia en diferentes áreas. En 1995, la terapia fotodinámica fue aprobada por la FDA como paliativo de carcinomas obstructivos de esófago y desde 1998 para el tratamiento de lesiones incipientes bronquiales.⁵ Otros usos aprobados en otros países son en casos de cáncer de pulmón, esófago, vejiga y otras enfermedades como la degeneración macular asociada con la edad. Así como también se reporta su uso en diversas áreas de la medicina como la dermatología, ginecología, neurología, cirugía, otorrinolaringología y la odontología.⁶

A principios de 1990 la TFD antimicrobiana fue introducida para el tratamiento de las infecciones orales localizadas.

El uso de los fotosensibilizantes como antimicrobianos se remonta también a principios del siglo XX, con el concepto de las “balas mágicas” introducido por Paul Erlich, el cual decía que si un compuesto puede tener selectividad para atacar una enfermedad causada por microorganismos, entonces una



toxina para este microorganismo puede ser liberada con la propiedad de selectividad. De este modo “las balas mágicas” se crearon para atacar a un organismo en específico.⁷ Este principio formó la base de la TFD antimicrobiana: si un microorganismo puede demostrar selectividad a un compuesto determinado, es posible que se destruya a este microorganismo mediante la acción lumínica.⁸

5. MECANISMOS INVOLUCRADOS EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA.

La TFD involucra la administración de un fotosensibilizante seguida de la aplicación de luz a una longitud de onda específica. Cuando la luz interactúa intracelularmente con el fotosensibilizante, la energía absorbida por las moléculas fotosensibilizadas genera fluorescencia o foto-oxidación como parte de la reacción, pero también depende del tipo de fotosensibilizante utilizado para el fin deseado. Mientras que la propiedad de fluorescencia es usada para fines diagnósticos de células cancerosas, la foto-oxidación ocasiona la destrucción celular el cual es el objetivo de la TFD. (Figura 3).

La TFD antimicrobiana se rige por los mismos principios.²

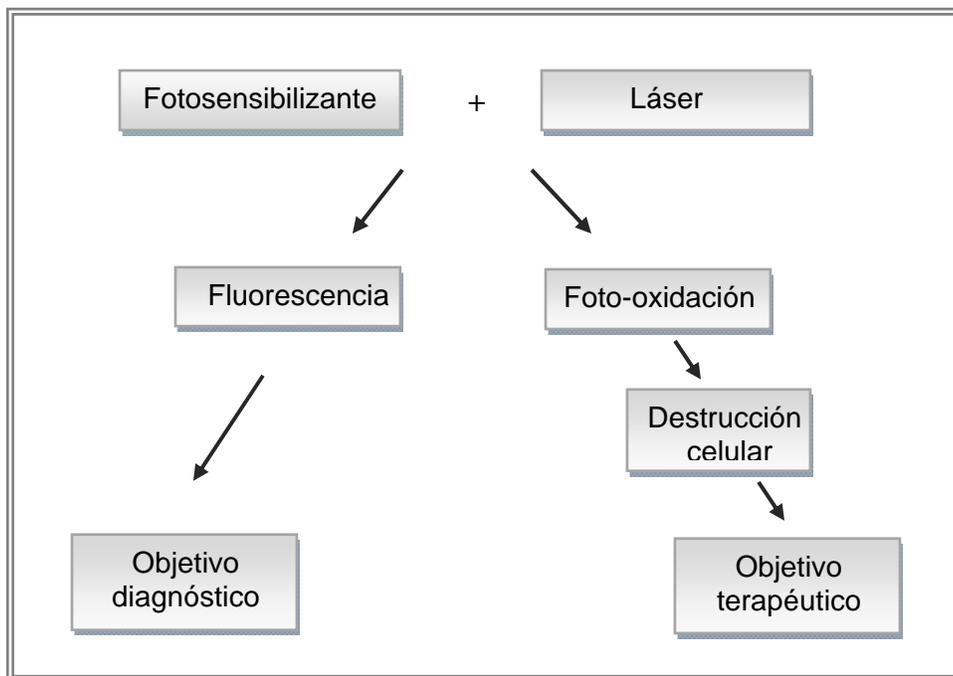


Figura 3. Mecanismo fotodinámico.²

5.1. Acción fotofísica.

El mecanismo de acción fotofísica de la TFD se puede explicar de la siguiente forma: después de la radiación con luz a una longitud de onda y dosis específica, el fotosensibilizante en un estado estacionario excita a los electrones de sus enlaces más reactivos a un estado excitado de corta duración ($>10^{-8}$ seg.) conocido como estado singlete, el cual puede desactivarse a través de diferentes procesos. Uno de los cuales implica pasar a otro estado altamente energizado conocido como estado triplete, en donde los electrones no apareados en orbitales moleculares diferentes, tienen espines paralelos, este estado tiene un período de vida de 10 ± 3 segundos. El mayor tiempo de vida de este estado triplete permite la interacción del fotosensibilizante excitado con las moléculas cercanas, es en este estado en donde se generan las sustancias citotóxicas.⁹

Los eventos que tienden a ocurrir a partir del estado excitado triplete pueden explicarse así:⁹

1. Un decaimiento radiante llamado fluorescencia.
2. Un decaimiento no radiante en forma de calor.
3. Un tipo de fotorreacciones directas con biomoléculas.
4. Un tipo de fotorreacciones indirectas a través del O_2 .

El estado triplete del fotosensibilizante puede seguir dos diferentes vías para reaccionar con las biomoléculas.¹⁰

Vía I: Involucra la separación de un átomo de hidrógeno o reacciones de electrones de transferencia entre el estado excitado del fotosensibilizante y un sustrato orgánico molecular de las células, lo que produce iones y radicales libres. Estos radicales libres son altamente reactivos e interactúan con el oxígeno endógeno molecular para producir grandes cantidades de diferentes tipos de oxígeno reactivo, tales como superóxido, radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno, que son altamente dañinos a la integridad de la membrana celular, causando un daño irreparable en la célula. Estas reacciones se presentan sin la participación de oxígeno (Figura 4).^{8, 11}

Vía II: La expresión de “acción fotodinámica” está restringida a las fotorreacciones oxígeno-dependientes como las que suceden en las fotorreacciones de tipo II. El fotosensibilizante en estado triplete reacciona con el oxígeno para producir un estado electrónicamente excitado y oxígeno altamente reactivo, llamado oxígeno singlete (1O_2) que puede interactuar con una gran cantidad de sustratos biológicos como resultado de la alta reactividad química, induciendo daño por oxidación y efectos letales sobre las células bacterianas, dañando a la membrana y la pared celular. (Figura 4).^{8, 11}

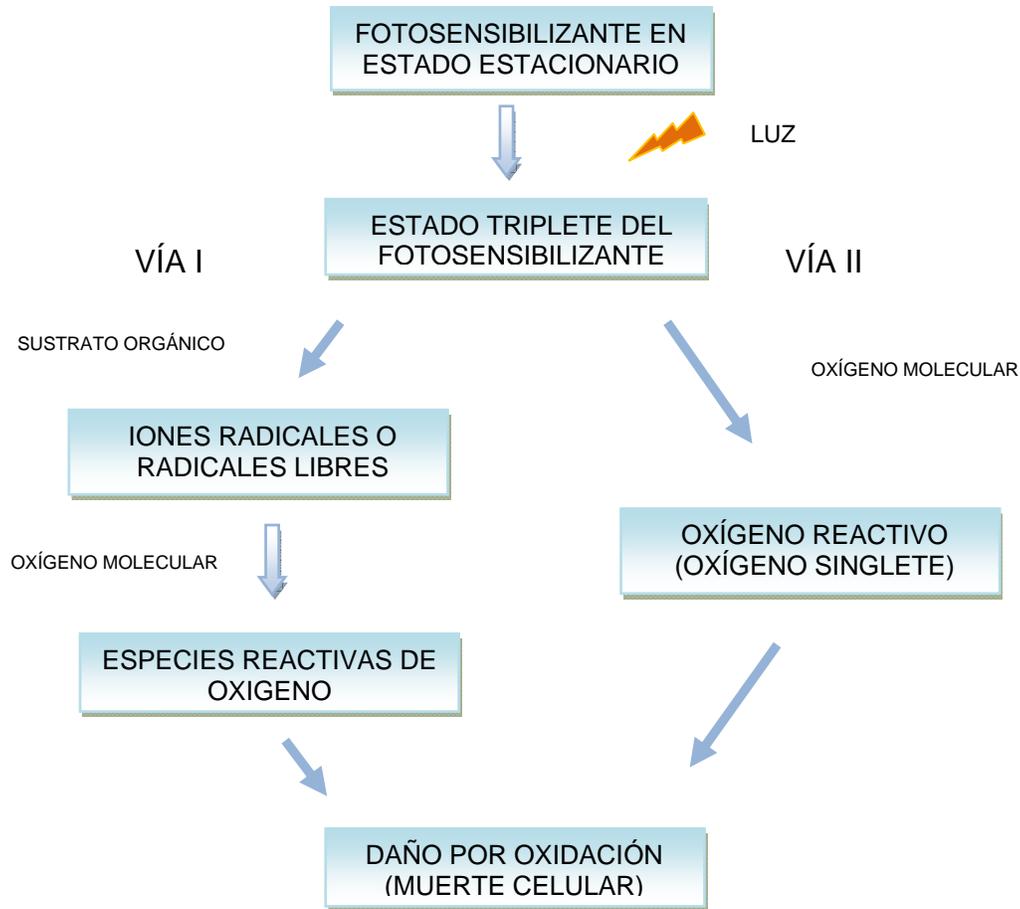


Figura 4. Mecanismos de acción fotofísica a nivel molecular.^{6,8}

En la TFD es difícil distinguir entre los dos mecanismos de reacción lo cual indica que teóricamente las dos fotorreacciones señaladas pueden ser importantes en la inducción de los efectos fotosensibilizantes, indicando que el mecanismo de daño es dependiente de la tensión de oxígeno y la concentración del fotosensibilizante.¹²

Por lo general la disipación de energía en forma de calor o de radiación no induce reactividad y/o fotosensibilización.⁹ En la reacción fotoquímica la luz actúa como un reactante, nunca como un catalizador. Ya que la luz se absorbe y se transforma en energía la cual excita a las moléculas; esta energía no se reutiliza, al contrario de un catalizador en el cual la energía se recupera de forma inalterada y puede ser reutilizada.²

5.2. Acción bactericida.

El efecto bactericida de la terapia fotodinámica puede ser explicado por medio de dos mecanismos. Uno de ellos es el daño al ADN bacteriano y el otro a la membrana citoplasmática bacteriana por medio de productos citotóxicos generados por la TFD, resultando en eventos, tales como la inactivación del sistema de transporte de la membrana, inhibición de las actividades enzimáticas, peroxidación lipídica entre otros.¹⁰

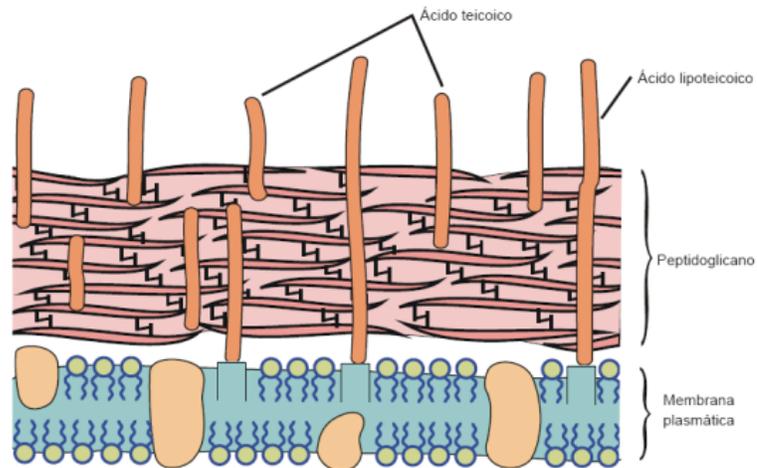
Según Michael R. Hamblin en 2004 publicó que existe evidencia de que los fotosensibilizantes que pueden intercalarse en las cadenas dobles del ADN pueden causar daño de forma más fácil. Sin embargo, se ha reportado que la muerte bacteriana como resultado de la reacción fotoquímica se ocasiona principalmente por daño a la membrana citoplasmática.¹³

La foto-inactivación de bacterias gram positivas y gram negativas se basa en el concepto de que ciertos fotosensibilizantes se pueden acumular en

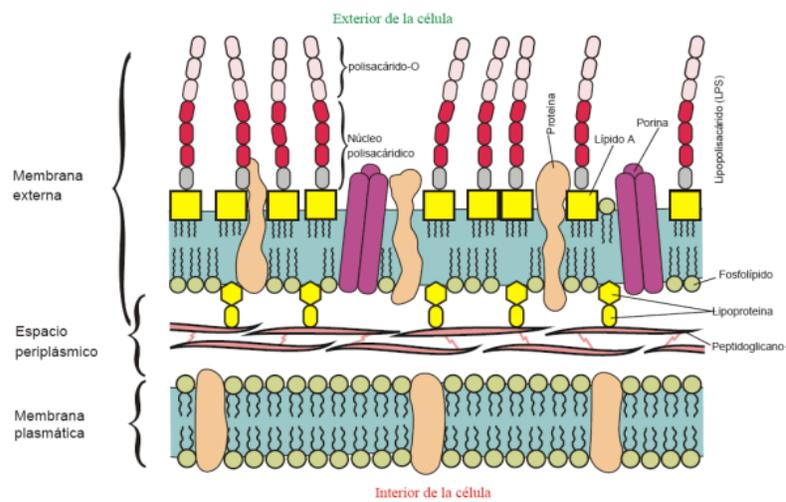
cantidades significantes en la membrana citoplasmática, lo cual produce un daño irreversible en la bacteria. La carga positiva del fotosensibilizante promueve la interacción electrostática en sitios con carga negativa de la superficie externa bacteriana.³

Se ha registrado diferencias en la susceptibilidad de las bacterias gram positivas y gram negativas ante la acción antimicrobiana de la TFD. Esto se puede explicar por la diferencia estructural de la membrana superficial de las bacterias gram positivas y gram negativas. Las bacterias gram positivas presentan una capa de peptidoglicanos que rodean a la membrana citoplasmática, la cual es relativamente porosa y permite el paso del fotosensibilizante. Por el contrario, la envoltura celular de las bacterias gram negativas consiste en dos membranas separadas por un espacio periplásmico de peptidoglicanos; la membrana externa actúa como una barrera entre la célula y su ambiente. En la membrana externa se encuentran diferentes proteínas, algunas de ellas funcionan como poros que permiten el paso de nutrientes mientras que otras tienen función enzimática o se encargan de mantener la integridad estructural de la membrana y la forma bacteriana.¹³ (Figura 5).

Estructura de la pared celular



Bacterias gram positivas



Bacterias gram negativas

Figura 5. Diferencia en la estructura de la pared celular de bacterias gram positivas y gram negativas.¹³

En un principio todas las moléculas son atacadas mediante la fotosensibilización por medio de la formación de oxígeno singlete; sin embargo las células sanas del cuerpo disponen de una defensa celular contra ataques de radicales por medio de enzimas como la superóxido dismutasa, las peroxidasas y las catalasas. La enzima superóxido dismutasa (SOD) cataliza la conversión de superóxido en oxígeno peróxido de hidrógeno. Debido a esto es una importante defensa antioxidante en la mayoría de las células expuestas al oxígeno, las peroxidasas catalizan la oxidación de un gran número de sustratos orgánicos e inorgánicos mediante reacciones bisustrato de carácter redox, utilizando un peróxido como oxidante y un segundo sustrato de características reductoras que es oxidado por el peróxido, mientras que las catalasas son enzimas que catalizan la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua.

El peróxido de hidrógeno es un residuo del metabolismo celular de muchos organismos vivos y tiene entre otras una función protectora contra microorganismos patógenos, principalmente anaerobios, pero dada su toxicidad debe transformarse en compuestos menos peligrosos. Esta función la efectúan estas enzimas que catalizan su descomposición en agua y oxígeno.

Además el fotosensibilizante se filtra como máximo en dos capas celulares (= 12µm) dentro del tejido, por lo que no existe peligro para las moléculas sanas.¹⁴

Para lograr la foto-inactivación de las bacterias gram negativas se han utilizado diferentes sustancias para cambiar la permeabilidad de la pared celular para ejercer un efecto citotóxico sobre estas. Niztan y colaboradores utilizaron PMBN (nonapéptido de polimixina B) para aumentar la permeabilidad de la membrana externa de las gram negativas y permitir así el paso del fotosensibilizante para interactuar con los diferentes tipos de oxígeno reactivo generados por la iluminación y poder causar un daño letal. El PMBN no libera lipopolisacáridos sino que expande los canales de la membrana externa permitiendo la entrada del fotosensibilizante. En su estudio también encontraron que el medio en el que se desarrollan las bacterias interfiere con la susceptibilidad a la foto-inactivación, también notaron que el tipo de proteína presente en el medio y su concentración interfieren con la susceptibilidad.¹³ Bertolini en su estudio utilizó EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) para tratar a las células y de esta manera se liberaban más del 50% de los lipopolisacáridos, de manera que las bacterias se volvían muy sensitivas a agentes hidrofóbicos. La explicación es que el vacío dejado por los lipopolisacáridos es llenado por fosfolípidos y estos median la impregnación de moléculas lipofílicas. Un intento más para foto-inactivar a las bacterias gram negativas consiste en la aplicación de fotosensibilizantes con carga positiva de esta manera se hace más fácil el acceso al interior de la célula.^{13, 15}

La tabla 1 realizada por Waniwright resume los mecanismos de fototoxicidad en las células microbianas.

Sitio de acción	Acción	Resultado	Consecuencia	Evento citotóxico
B A C T E R I A S	Agua	Formación de radicales hidroxilo (HO)	Formación de peróxido de hidrógeno, superóxido (O ₂ ⁻)	Procesos oxidativos
	Pared celular/membrana lipídica insaturada/esteroles	Peroxidación	Peroxidación	Aumento de la permeabilidad de iones (Salida de Na ⁺ /K ⁺)
	Péptidos	Abstracción de hidrógeno	Enlaces cruzados peptídicos	Pérdida de la reparación, lisis
	Cadenas de respiración	Reacciones redox		Inhibición de la respiración
	Residuos de ácidos nucleicos (guanósina)	Oxidación de las bases o de azúcares	8-hidroxi-guanósina	Degradación nucleotídica; degradación de azúcares, división
V I R U S	Enzimas citoplasmáticas/ enzimas virales(transcriptasa reversa)	Oxidación o enlaces cruzados		Inhibición en el ensamblaje ribosomal, inhibición de la replicación/infectividad
	Envoltura proteínica viral	Oxidación de residuos de tirosina(Tyr), metionina (Met) e histidina(His)	Degradación proteica	Pérdida de infectividad viral

Tabla 1. Mecanismos de fototoxicidad en las células microbianas.⁸

6. AGENTES FOTOSENSIBILIZANTES UTILIZADOS EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA.

6.1. Definición de fotosensibilizante.

Se define a un fotosensibilizante como un fármaco o sustancia que aumenta la reacción a las ondas lumínicas.¹⁶

Los fotosensibilizantes son compuestos capaces de absorber luz de una longitud de onda específica y transformarla en energía útil. En el caso de la TDF se involucra también la producción de agentes letales citotóxicos.

La característica de cualquier fotosensibilizante es la habilidad de acumularse en el tejido específico y generar agentes citotóxicos que desencadenen el efecto biológico deseado.⁶

6.2. Características ideales.

- Ser químicamente puro y de composición constante.
- Ser citotóxico en presencia de luz.
- Ser retenido por el tejido específico.
- Ser excretado fácilmente del organismo.
- Tener una gran reactividad fotoquímica en estados altamente energizados y ser capaz de producir oxígeno singlete además de otras especies reactivas de oxígeno.

- Tener una absorción amplia con un gran coeficiente de extinción a una longitud de onda larga (600-800 nm) donde la penetración de la luz en el tejido esté al máximo y pueda seguir siendo energético para producir oxígeno singlete.

6.3. Tipos de fotosensibilizantes antimicrobianos.

Existen compuestos naturales y sintéticos, que pueden funcionar como fotosensibilizantes en la TFD.⁶ La mayoría de los fotosensibilizantes de uso médico siguen las siguientes estructuras básicas.¹¹

- Productos naturales: Furanocumarinas, psoralenos y sus metoxi-derivados, xantotoxina, bergapteno.
- Tetrapirroles: Porfirinas y sus derivados, éter de hematoporfirina, clorofila, filioeritrina, ftalocianinas.
- Compuestos tricíclicos (fenotiazinas): Acridina naranja, proflavina, riboflavina, azul de metileno, azul de toluidina, eosina, eritrosina, rosa de bengala, derivados de azina.

La primera generación de fotosensibilizantes la constituyen los tetrapirroles con la hematoporfirina y sus derivados como el porfímero sódico o el éter de hematoporfirina que son los fotosensibilizantes comúnmente usados en la TFD. La hematoporfirina es un colorante violeta oscuro que no contiene

hierro y se obtiene cuando reacciona ácido clorhídrico o ácido sulfúrico concentrado sobre la hematina. El éter de hematoporfirina es el componente purificado del derivado de la hematoporfirina, que consiste en una mezcla de porfirinas oligoméricas.

Este fue el primer fármaco aprobado por los Estados Unidos en 1995 para el tratamiento fotodinámico de pacientes con cáncer de esófago, comercialmente conocido como Photofrin®. (Figura 6).¹⁷

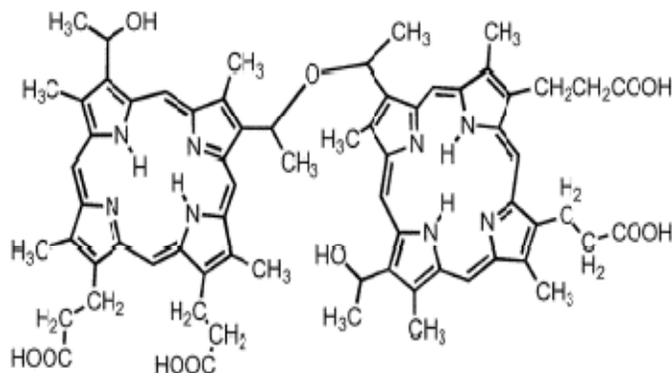


Figura 6. Estructura química de Photofrin.¹⁸

En la tabla 2 se presentan los principales fotosensibilizantes utilizados en la TFD antimicrobiana.

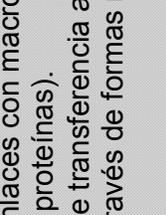
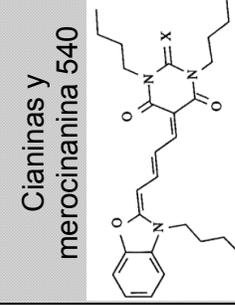
Grupo	Nombre	Sitio de acción	Propiedades
	<p>Furanocumarinas</p> 	<p>Alteración o desorganización a nivel del ADN</p>	<p>Fototóxica. Realiza fotoenlaces con macromoléculas (ADN, ARN y proteínas). Reacciones de transferencia a los sustratos biológicos a través de formas reactivas de oxígeno. Gran selectividad a virus. Incrementa la fotoactividad en el sitio diana.</p>
<p>Productos naturales</p>	<p>Pigmentos perileno quinoides (Hipericina)</p> 	<p>Inhibe la proteína cinasa C</p>	<p>La inhibición de proteína cinasa C, es un objetivo clave en medicamentos antivirales y anticancerosos. Absorción infrarroja. Eficiencia para generar oxígeno singlete.</p>
<p>Tetrapiroles</p>	<p>Cianinas y merocianina 540</p> 	<p>Interacción con el ADN y proteínas moleculares</p>	<p>Gran capacidad para generar oxígeno singlete. Desinfección de plasma y otros componentes séricos. Cubren el espectro de rayos IR y UV.</p>

Tabla 2. Principales fotosensibilizantes utilizados en la TFD antimicrobiana. ^{6, 8, 11, 13}

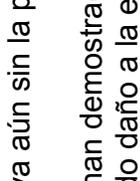
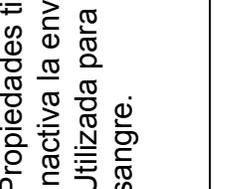
Grupo	Nombre	Sitio de acción	Propiedades
	Porfirina 	Interacción con la envoltura viral y el ADN bacteriano	Puede estar activa aún sin la presencia de luz. Estudios <i>in vitro</i> han demostrado su efecto virucida, causando daño a la envoltura viral
Tetrapirroles	Ftalocianina 	Daño a la membrana/citosol	Capaz de producir altas concentraciones de oxígeno singlete. Utilizada en la desinfección de productos sanguíneos. Posee acción para la foto-inactivación de la envoltura viral. Su uso como bactericida ha sido comprobado y se ha visto que sólo es activa con la exposición a la luz.
Compuestos tricíclicos (fenotiazinas)	Azul de metileno 	Interacción con el ADN	Acción de óxido-reducción. Propiedades tincionales en los tejidos. Inactiva la envoltura celular. Utilizada para la descontaminación de la sangre.

Tabla 2. Principales fotosensibilizantes utilizados en la TFD antimicrobiana. ^{6, 8, 11, 13}

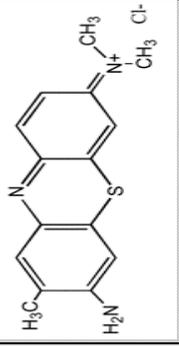
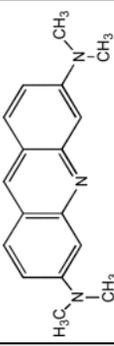
Grupo	Nombre	Sitio de acción	Propiedades
Compuestos tricíclicos (Fenotiazinas)	Azul de toluidina O 	Membrana celular	Solución azul-violácea. Potente antimicrobiano, se fija a la pared bacteriana. Baja dosis luminica requerida para su activación. Puede teñirse en gránulos dentro de los mastocitos, y proteoglicanos, glucosaminoglucanos dentro del tejido conectivo.
	Acridina Naranja 	Interacción con el ADN	Interactúan con una amplia cantidad de microorganismos. Ha sido empleada como colorante vital, da una fluorescencia verde si el microorganismo está vivo y roja si está muerto.

Tabla 2. Principales fotosensibilizantes utilizados en la TFD antimicrobiana.^{6, 8, 11, 13}

Los compuestos de fenotiazina (azul de toluidina O y azul de metileno) son los principales fotosensibilizantes aplicados en el campo de la medicina para la identificación de displasias o lesiones precancerosas de la mucosa. En el campo de la cirugía oral, el azul de toluidina O ha sido usado para la detección de tumores en la mucosa o de epitelio atípico, ya que la mucosa o el epitelio normal no se tiñen con azul de toluidina. El azul de metileno es un indicador redox (oxido-reducción), que es azul al momento de la oxidación y va perdiendo el color al momento de la reducción.^{6, 10}

Se ha demostrado que el azul de toluidina O y el azul de metileno son agentes fotosensibilizantes muy efectivos para la inactivación de bacterias gram positivas y gram negativas debido a su estructura química y propiedades fisicoquímicas similares. El azul de metileno es utilizado para la inactivación de virus dentro del plasma sanguíneo mientras que el azul de toluidina ha sido reportado como una sustancia antifúngica y antibactericida ya que inactiva bacterias gram positivas y gram negativas. Los dos compuestos en combinación con luz causan un daño importante en diferentes tipos de adenovirus, VEV (virus de la estomatitis vesicular), VHS (virus del herpes simple) y bacterias periodontopatógenas (gram positivas y gram negativas).¹⁰ Usacheva en su estudio en donde comparó la eficacia de ambas sustancias, encontró que la susceptibilidad de las bacterias gram negativas cambia de acuerdo al coeficiente de permeabilidad y a las porinas de la membrana externa, por lo tanto está característica podría tener un efecto sobre la destrucción total bacteriana. A su vez la hidrofobicidad y la carga del compuesto determinan la velocidad con la que atraviesa los canales de porina de la membrana externa.¹⁹

El azul de metileno y el azul de toluidina O atraviesan de manera efectiva la membrana externa de las bacterias gram negativas debido a los valores de hidrofobicidad, el bajo peso molecular y la carga positiva de estos compuestos. El azul de toluidina O tiene un mayor efecto fotobactericida que el azul de metileno, según resultados encontrados en este estudio.¹⁹

La eficacia fotodinámica de los diferentes compuestos es determinada por varias características fotofísicas como: el coeficiente molar de extinción, el rendimiento cuántico del estado triplete, los potenciales redox de los estados excitados de los compuestos, formación de radicales o especies reactivas de oxígeno si la reacción ocurrida es de tipo I ó el rendimiento cuántico de $^1\text{O}_2$ (oxígeno singlete) si la reacción ocurrida es de tipo II.¹⁹ Ambos compuestos (azul de toluidina O y azul de metileno) cuentan con una amplia absorción en la región roja del espectro de luz. El coeficiente de extinción para estos compuestos es casi el mismo, los potenciales de reducción en el estado estacionario de cada compuesto tiene el mismo valor. Sin embargo, el potencial de reducción del estado triplete es mayor para el azul de toluidina O que para el azul de metileno, mientras que el azul de metileno genera oxígeno singlete con un rendimiento cuántico ligeramente mayor que el azul de toluidina. Esto sugiere que la solubilidad del azul de toluidina O es mayor en la región hidrofóbica de la membrana, de esta manera este compuesto interactúa de manera más efectiva con la membrana bacteriana que el azul de metileno. Como resultado, la concentración de azul de toluidina O dentro de la célula bacteriana es mayor que la de azul de metileno. Esto puede explicar la menor actividad bactericida del azul de toluidina. La similaridad de la eficacia fotodinámica de ambos compuestos nos lleva a considerar que la

diferencia en el efecto bactericida puede estar relacionada con la concentración del compuesto dentro de la célula.^{19,20}

Para comprender las diferencias en el efecto bactericida se debe tomar en cuenta la localización celular del compuesto y el tipo de especies generadas por el compuesto que causan el daño celular. Todos los compuestos de fenotiazina, en especial el azul de toluidina O, son considerados efectivos agentes destructores de la membrana debido a que se unen a los polifosfatos localizados en la membrana externa y producen daño molecular a lípidos y proteínas. Por consiguiente la reactivación fotodinámica de estos compuestos aumenta de acuerdo a su hidrofobicidad. Basado en este concepto al azul de toluidina O es más efectivo atacando la membrana que el azul de metileno. Sin embargo, esta no es la única manera de fotodestrucción bacteriana causada por el azul de toluidina O. Ha sido probado en el *Porphyromonas gingivalis* que después de la acumulación del azul de toluidina en la membrana externa, el compuesto puede penetrar dentro de la membrana plasmática y dañar a las proteínas fotolábiles. También se observó una ligera ruptura en el ADN de las células bacterianas entre otros tipos de destrucción celular. Por el contrario, el azul de metileno causa daño al ADN bacteriano y en menor cantidad a la membrana externa. El mecanismo genotóxico del azul de metileno se puede explicar debido a la habilidad de este compuesto de fotodegradar ADN aislado *in vitro*, comparado con otros compuestos de fenotiazina. Sin embargo, en condiciones *in vivo*, la interacción entre el compuesto y el ADN es más complicada debido a que las moléculas del compuesto requieren acceder a la célula. Por lo tanto, el mecanismo de daño celular depende de varios

factores como la adhesión del compuesto a la membrana celular externa, la penetración a través de la membrana celular y la habilidad de interactuar con los diferentes sustratos de la célula incluyendo el ADN. Por consiguiente, la localización celular del azul de metileno y el azul de toluidina O puede ser un factor que determine la eficacia de estos compuestos.¹⁹

Otro factor importante, en el mecanismo y efectividad de fotodestrucción, es el tipo de especies del compuesto (monómeros, dímeros ó agregados de orden superior) que pueden ser responsables del efecto fotodinámico. Este concepto se refiere a la interacción intermolecular de una o más moléculas idénticas más cercanas y juntas que otras. Dentro de la célula los compuestos dimericos son los principales agentes causantes del daño celular. La ubicación y el mecanismo de destrucción celular dependen de la geometría del dímero, la orientación de los componentes del monómero, su planicidad y su habilidad de formar enlaces de hidrógeno. La gran habilidad de las moléculas del azul de toluidina O de formar enlaces de hidrógeno y la gran planicidad de las moléculas del azul de metileno ocasiona la formación de dímeros con diferente geometría. Estos dímeros se difunden por las diferentes regiones de la membrana de acuerdo a su hidrofobicidad. Esto permitiría a los dímeros de azul toluidina O y azul de metileno localizarse en diferentes regiones celulares y utilizar diferentes mecanismos de destrucción celular. Es necesario considerar la formación de dímeros de azul de toluidina O y azul de metileno en la célula bacteriana y su geometría diferente como un posible factor responsable de la diferente actividad fotobactericida de estos compuestos.^{19, 21}



Estos compuestos han sido utilizado en estudios *in vitro* y clínicos, siendo el azul de metileno el fotosensibilizante de elección debido a que los kits comerciales disponibles para la TFD antimicrobiana incluyen este compuesto.²²

7. LASERS DE USO ODONTOLÓGICO

7.1. Definición de laser

El término laser se debe al acrónimo del inglés que en español significa “amplificación de luz por emisión estimulada de radiación” y es designado a todos aquellos dispositivos que generan un haz de luz coherente como consecuencia de una emisión inducida o estimulada, descubierto en 1916 por Albert Einstein.²³ En el campo de la Odontología su introducción se debe a Goldman en 1965, el cual llevó a cabo un estudio con un láser de rubí para ser aplicado en tejido dentinario.²⁴ Los lasers han evolucionado poco a poco hasta ser útiles en diversas ramas de la odontología.

El uso del laser en la TFD se justifica debido a la posibilidad de focalizar el haz de láser en áreas pequeñas y la posible emisión de altas densidades de energía.²⁵

7.2. Física del laser

La luz es energía transmitida a lo largo del espectro electromagnético, que puede ser ultravioleta, visible o infrarroja, así, se puede decir que la luz es energía con una determinada longitud de onda, frecuencia y amplitud.

La longitud de onda es la distancia que existe entre las crestas de una onda; la frecuencia es el tiempo que esta onda se toma para replicarse a lo largo del espacio y la amplitud es la altura de la misma entre la base y la cresta. La

importancia de estos conceptos radica en que a una menor longitud de onda mayor frecuencia y a mayor longitud de onda menor frecuencia (Figura 7). Cuando la luz tiene una mayor frecuencia produce más calor y cuando tiene menor frecuencia produce menos calor, por lo tanto, los equipos utilizados en Odontología y en específico en la TFD antimicrobiana son de baja frecuencia para no producir un efecto térmico negativo en los tejidos y capaz de excitar al fotosensibilizante.

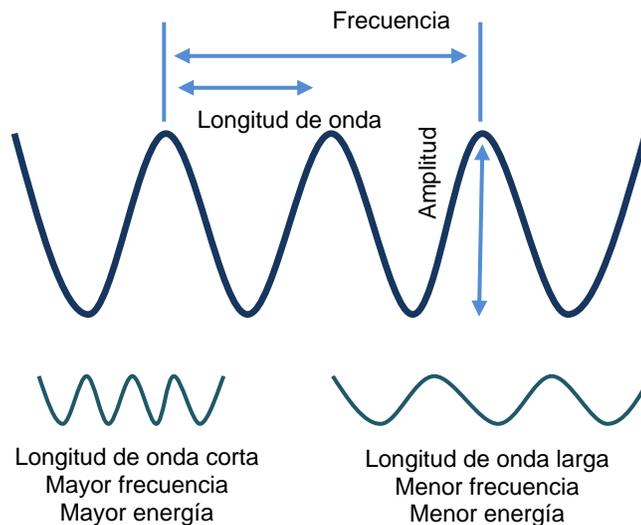


Figura 7. Longitud de onda. ^{Fuente directa}

A lo largo del espectro electromagnético se desplaza la energía a manera de ondas, y dependiendo de la longitud de éstas, la energía podrá ser luz si se encuentra dentro del rango de los 120 nm hasta los 11.000 nm y dentro de ese rango podrá ser luz U.V.(120 nm-385 nm), luz visible (385 nm-780 nm) o infrarroja (780 nm-11.000 nm).(Figura 8).²⁶

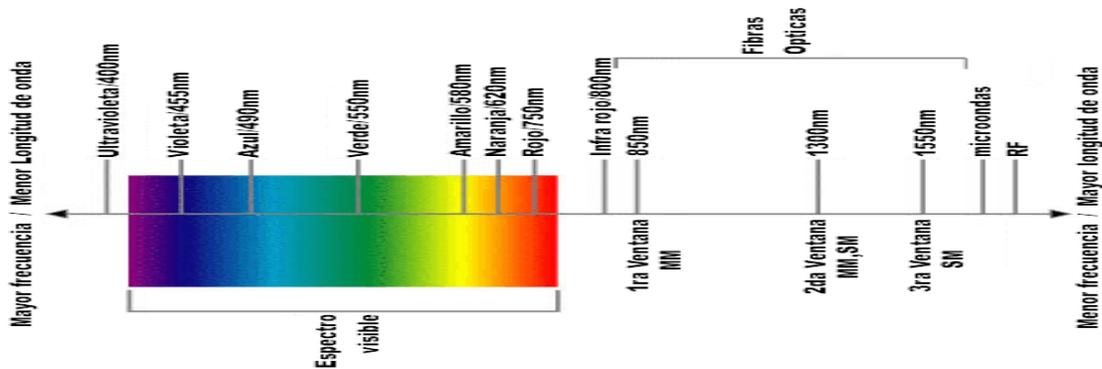


Figura 8. Espectro electromagnético.

La energía del laser se mide en julios (1 julio= 1 watt x segundo). Ya que esta energía se desarrolla en un área se puede llamar fluencia, equivalente a 1 julio/cm². La potencia es la cantidad de energía que se consume en una determinada unidad de tiempo; la unidad de medida para la potencia es el watt, y la densidad de potencia el watt/cm².²⁶

7.3. Laser en la TFD antimicrobiana.

La longitud de onda de los lasers utilizados en Odontología va desde los 193 nm a los 10 600 nm, teniendo un espectro amplio que va desde el rango de luz ultravioleta hasta el cercano al infrarrojo.²⁴

La energía emitida por un láser es luz de un color, de una misma longitud de onda y una misma frecuencia (monocromática). Todas sus ondas electromagnéticas están en la misma fase (coherente) y todas sus ondas electromagnéticas son paralelas (colimada). Estas características hacen que el laser mantenga un rayo coordinado e intenso por una larga distancia.

Cuando el laser interactúa con el tejido pueden presentarse varios procesos como: reflexión, absorción, transmisión y dispersión; en el caso de los tejidos biológicos, la energía del laser es absorbida por la superficie del tejido específico y solo se presenta dispersión en casos de penetración profunda al tejido. La absorción en los tejidos biológicos se da principalmente por la presencia de moléculas de agua en las células, proteínas, pigmentos y otras macromoléculas. La energía absorbida se convierte en calor, esta absorción se ve afectada por varios parámetros como la emisión de la longitud de onda, potencia (watts), la forma de emisión (continua o pulsada), frecuencia de pulsos, energía/pulso, la densidad de energía, área de irradiación, ritmo y tiempo de tratamiento, energía máxima del pulso, angulación del haz de luz emitido en el tejido específico y las propiedades ópticas del tejido.²⁴ La penetración de la luz en los tejidos depende de las características ópticas de este, y la forma de la luz liberada. La profundidad óptica de penetración se define como la profundidad a la que la intensidad de propagación es atenuada aproximadamente al 37% de su valor inicial. En los tejidos, la luz entre los 600-700 nm penetra en un 50-200% más que la luz entre los 400-500nm. Cuando las propiedades ópticas de los fotosensibilizantes también son consideradas en la penetración de los tejidos, la penetración a los 630 nm es de tres a cuatro veces más amplia que la penetración a 400-420 nm donde el coeficiente de absorción de los fotosensibilizantes es más amplia.

Como resultado, la TFD es usada con una longitud de onda mayor a los 620 nm en donde la mayor cantidad de tejido se puede tratar.²⁵

Debido a estos requerimientos es deseable que las propiedades ópticas de los fotosensibilizantes estén en la región roja del espectro o cerca de la región infrarroja donde la penetración de la radiación incidente es más amplia. En la TFD antimicrobiana no se utilizan láseres de alta potencia, debido a que uno de baja potencia y un corto tiempo de exposición producen un gran efecto bactericida.²⁵

Las fuentes de luz más utilizadas en la terapia fotodinámica son el láser de helio-neón (633 nm), láser de arseniuro de galio-aluminio (630-690, 830 ó 906 nm) y láser de argón (488-514 nm). La longitud de onda va desde el espectro de luz azul (láser de argón), al de luz roja (láser de helio-neón y láser de arseniuro de galio-aluminio) hasta la región cercana a la infrarroja (algunos diodo láser).¹⁰

7.3.1. Láser de Helio-Neón

Es un láser gaseoso que se caracteriza por tener como medio activo un gas atómico, en este caso el medio activo es una mezcla gaseosa de helio y neón. Fue introducido en 1960. Su longitud de onda es de 632.8 nm, se encuentra dentro del espectro visible, concretamente el rojo.

Sus principales características son:

- Emisión de un haz estrecho de luz
- Alto grado de paralelismo
- Direccionalidad
- Monocromaticidad

El laser de helio-neón es de baja potencia, este tipo de laser carece del efecto térmico ya que la potencia que utilizan es menor y la superficie de actuación mayor, de este modo el calor se dispersa; sin embargo, producen un efecto bioestimulante celular. Su aplicación fundamental en Odontología es para acelerar la regeneración tisular y la cicatrización de las heridas disminuyendo la inflamación y el dolor. Su modo de acción no es bien conocido pero se cree que modula el comportamiento celular sin incrementar significativamente la temperatura tisular. Se produce una interacción entre las células y los fotones irradiados (reacción fotoquímica); la célula absorbe energía del fotón y esta es transferida a las distintas moléculas, que a su vez estimulan otras biomoléculas. La energía transferida, que dependerá del poder de penetración del haz de energía, provoca un aumento de la energía cinética activando o desactivando enzimas u otras propiedades físicas y químicas de otras macromoléculas principales.²⁷

7.3.2. Diodo laser

Un diodo laser es un laser de estado sólido y semiconductor. Se utiliza en combinación con Galio (Ga), Arseniuro (AS) y otros elementos como Aluminio (Al) e Indio (In) para cambiar la energía eléctrica en energía lumínica.

El rango de su longitud de onda va de los 800-930 nm. Este tipo de laser puede ser emitido de forma continua o en forma pulsada (picosegundos a milisegundos) con una potencia entre 2 a 10 watts y utiliza una fibra óptica para su emisión, además de que cuenta un sistema de refrigeración. El rango entre los 800-930 nm se absorbe poco en agua, pero su absorción es mayor en hemoglobina y otros pigmentos.²⁸

Sus principales ventajas son:

- Eficientes.
- Fiables.
- Económicos.
- Tienen tiempos de vida media largos.
- Permiten la modulación directa de la radiación emitida.
- Tienen volumen y peso pequeños.
- Su consumo de energía es reducido.

Debido a que el laser no interactúa con los tejidos duros es utilizado en la cirugía de tejidos blandos; está indicado para la incisión y la coagulación de la mucosa oral y encía. En 1995 la FDA aprobó el laser diodo de GaAlAs (láser diodo de arseniuro de galio-aluminio) para la cirugía de tejidos orales blandos y en 1998 para el curetaje de tejidos blandos y el desbridamiento de la bolsa periodontal

El laser de Arseniuro de Galio-Aluminio (GaAlAs) es un laser continuo con una longitud de onda de 830 nm, que puede trabajar con una potencia máxima de 100W y es transmisible por fibra óptica. Dentro del espectro se encuentran en la región roja y cercana a la infrarroja.^{27, 29}

7.3.3. Laser de Argón

El laser de argón pertenece a la familia de los lasers de iones que usan un gas noble como medio activo. Fue inventado en 1964 por William Bridges. Contiene un tubo lleno de gas argón, el cual se transforma en plasma en un estado excitado. Emite en varias longitudes de onda desde el infrarrojo hasta el ultravioleta. Emite alrededor 1-20 watts distribuidos entre todas las longitudes de onda emitidas. Las dos principales transiciones del láser están en el visible: azul (488nm) y verde (514.5 nm). Para su emisión es necesaria una fibra óptica y puede ser utilizada en modo continuo o por pulsadas.

El laser de argón se absorbe muy poco en agua por lo tanto no interactúa con tejidos duros. Tiene su absorción máxima en el pigmento rojo, por lo tanto los tejidos que contienen hemoglobina, hemosiderina y melanina interactúan fácilmente con este laser, además interactúa con las bacterias pigmentadas. El laser de argón fue aprobado por la FDA en 1991 para la cirugía de tejidos orales blandos, en donde está considerado como un láser quirúrgico con capacidades hemostáticas excelentes, y la fotopolimerización de composites, en 1995 se aprobó su uso en el blanqueamiento dental.²⁹

7.3.4. Otras fuentes utilizadas

Recientemente, las fuentes de luz no-laser, tal como el diodo emisor de luz (LED, por sus siglas en inglés) han sido propuestas como una nueva fuente de activación en la terapia fotodinámica.¹⁰

El LED es un dispositivo semiconductor (diodo) que emite luz incoherente de espectro reducido. El color, depende del material semiconductor empleado en la construcción del diodo y puede variar desde el ultravioleta (UVA), pasando por el visible, hasta el infrarrojo. Su longitud de onda va de los 350 nm (UVA) a los 1100 nm (cercano al infrarrojo). Su potencia es de 150 mW/cm² en un área de aproximadamente de 20 cm².²⁵

Ventajas:³⁰

- Son económicos
- Versatilidad
- Fiabilidad
- Mayor resistencia energética
- Mejor disipación de energía
- Menor riesgo para el medio ambiente
- Capacidad de operar en modo intermitente o continuo.
- Pueden utilizar baterías, lo cual los hace muy portables.

8. TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA Y SU USO EN ODONTOLOGÍA.

En la cavidad bucal existen un gran número de bacterias que componen la microflora bacteriana normal, siendo la mayoría de estas bacterias benéficas, sin embargo se han identificado ciertas bacterias como agentes etiológicos de varias enfermedades, tanto dentro y fuera de la cavidad oral. Las bacterias en la boca se encuentran agregadas en comunidades organizadas conocidas como biopelículas que se adhieren a las superficies de los dientes, cuando estos microorganismos consiguen los sustratos necesarios para sobrevivir y persisten mucho tiempo sobre las superficies dentales pueden organizarse y causar caries, gingivitis o periodontitis.

El tratamiento de estas enfermedades consiste por lo general en la remoción mecánica de los microorganismos causantes. Se sabe que estas enfermedades están asociadas a microorganismos específicos o a un grupo de microorganismos por lo que se ha mostrado interés en el uso de agentes antimicrobianos para complementar los procedimientos mecánicos de elección. Debido a que es difícil mantener concentraciones terapéuticas de estos compuestos dentro de la cavidad oral y que además pueden encontrarse reacciones de resistencia bacteriana a estos compuestos, es necesaria la creación de nuevas técnicas con propiedades antimicrobianas.

La terapia fotodinámica antimicrobiana representa una alternativa como tratamiento antibacteriano.

Se ha demostrado que es posible la fotosensibilización de bacterias responsables de la caries, la enfermedad periodontal y las infecciones del conducto radicular, mediante una luz roja y una serie de agentes fotosensibilizantes como el azul de toluidina, el azul metileno y la ftalocianina.³¹

La aplicación de la TFD en Odontología ha significado un gran avance debido a que la eliminación de las bacterias puede ser realizada en períodos de tiempo corto (segundos o minutos), además de que es poco probable que los microorganismos desarrollen resistencia y se puede evitar el daño a los tejidos y la microflora adyacente, ya que su aplicación es de tipo local y es posible aplicarla en sitios de difícil acceso mediante una fibra óptica.³¹

Las propiedades antimicrobianas de la terapia fotodinámica la hacen una gran elección para el tratamiento de infecciones bacterianas, virales y fúngicas de la cavidad oral. En la operatoria dental ha sido utilizada, y se ha demostrado su eficacia como tratamiento y en la prevención de la caries dental. Varios estudios *in vitro* han demostrado la gran acción bactericida contra ciertas bacterias gram positivas como *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*, los cuales juegan un papel importante en la etiología de la caries dental. También se han realizado estudios clínicos con la terapia fotodinámica antimicrobiana para eliminar las bacterias de la dentina cariada reblandecida, interviniendo en la eliminación mecánica de la dentina cariada, reduciendo así el riesgo de exposición pulpar o necrosis, así como la necesidad de realizar recubrimientos pulpares.^{31, 32} En Endodoncia la terapia fotodinámica ha sido reportada eficaz como coadyuvante en el tratamiento endodóncico convencional, destruyendo

las bacterias remanentes que pudieran haber quedado aún después de la irrigación con hipoclorito de sodio. Varios estudios han demostrado su eficacia en la eliminación de bacterias anaerobias y aerobias, incluyendo *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces*, *Porphyromonas* y *Prevotella spp.*, en lesiones endodóncicas primarias o en casos de fracaso del tratamiento de conductos. En un estudio *in vitro* realizado en 2008 por Jacob L. Fimple y colaboradores en el cual utilizó la TFD para tratar las infecciones endodóncicas polimicrobianas usando el azul de metileno como fotosensibilizante y seguida de la exposición al láser de luz roja a una longitud de onda de 665nm y una potencia de 30 J/cm², liberada en el conducto por medio de una fibra óptica de polimetilmetacrilato, encontró que la eficacia de esta terapia era de un 80% en la reducción de las bacterias, comprobando que la TFD puede ser de utilidad como tratamiento adjunto al tratamiento de conductos tradicional.³³

La TFD también es usada como tratamiento paleativo o definitivo de diferentes lesiones malignas y premalignas tales como tumores sólidos orales, lesiones orales superficiales precancerosas, leucoplasia, eritroleucoplasia oral, hiperplasia verrugosa oral y liquen plano. La TFD se aplica en estas lesiones ya que causa necrosis local del tejido canceroso dejando pocas secuelas además de que su toxicidad no es acumulativa haciendo a esta terapia efectiva para el manejo de estas lesiones.³⁴

Otros estudios han revelado la utilidad de la TFD en el tratamiento de *Candida albicans*, que es responsable de las candidiasis orofaríngeas. También ha sido eficaz en el tratamiento de infecciones virales, incluyendo las infecciones labiales por herpes simple ya que se ha demostrado que la envoltura viral es dañada con la terapia fotodinámica.¹⁰

9. TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

La periodontitis es una enfermedad infecciosa asociada a la presencia de placa bacteriana, es multifactorial que puede ser modificada por diferentes factores de riesgo. Las bacterias residentes en la placa bacteriana son responsables de la inducción y el mantenimiento de la inflamación. En el tratamiento de la enfermedad periodontal la meta principal consiste en la máxima reducción de los agentes patógenos presentes, esto por medio de la terapia mecánica (raspado y alisado radicular), con o sin el uso de antibióticos o antisépticos o por medio de tratamiento quirúrgicos.¹¹ La cantidad y tipo de tratamiento varía dependiendo la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, ni la remoción mecánica de la placa dentobacteriana, el cepillado dental, los enjuagues bucales ni el uso de antibióticos permiten la desinfección completa de la bolsa periodontal.

El control eficaz de la enfermedad periodontal depende de la identificación de microorganismos causantes, del correcto tratamiento de la infección ya establecida y del mantenimiento subsecuente de la enfermedad. Además es importante que la enfermedad periodontal, sea diagnosticada y tratada en etapas tempranas cuando las manifestaciones pueden ser controladas y el daño al periodonto sea reversible. A menudo, se requiere la combinación de agentes antimicrobianos para obtener una cobertura de amplio espectro contra los patógenos, de este modo proporcionando sinergia del medicamento y previniendo el desarrollo de la resistencia.³⁵

La integración de esta terapia se lleva a cabo de la siguiente manera: el tratamiento periodontal se realiza de manera convencional en el cual después de realizar la historia clínica del paciente para conocer su estado sistémico se realiza el examen periodontal para diagnosticar la situación periodontal del paciente para de ahí con los datos obtenidos partir hacia un diagnóstico periodontal que determine el tipo de tratamiento a seguir. La TFD antimicrobiana forma parte de la fase no quirúrgica del tratamiento periodontal junto con las demás acciones realizadas en esta fase de higiene o no quirúrgica. Si el paciente responde a la terapia se seguirá con la fase de mantenimiento; si el paciente no responde es necesaria la fase quirúrgica del tratamiento periodontal seguida de la fase de mantenimiento (Figura 9). Con esta terapia se espera resolver las dificultades y los problemas a los que se enfrenta la terapia convencional periodontal y el uso de antibióticos.³⁶

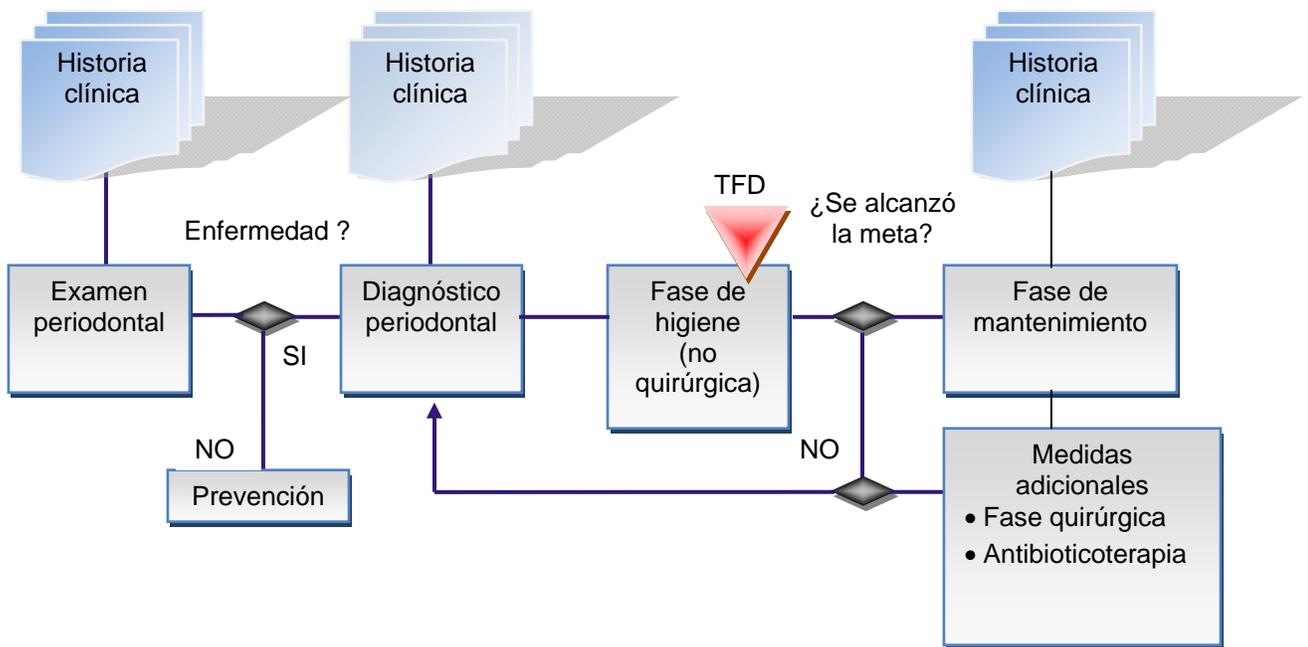


Figura 9. Integración de la TFD antimicrobiana en el tratamiento periodontal.³⁶

9.1. Ventajas y desventajas.

- Tratamiento no quirúrgico
- Procedimiento corto.
- Específico y de tipo local.
- El daño causado a los tejidos adyacentes es mínimo.
- Evita el daño a la microflora normal en otros sitios.
- No se requieren láseres de alto nivel.
- Las sustancias fotosensibilizantes son conocidas y usadas con seguridad.³⁷

Las principales desventajas se centran en el uso de equipo especializado para su ejecución, además de que se necesitan mayores estudios que avalen el uso de esta terapia como coadyuvante en la fase no quirúrgica del tratamiento periodontal³⁷ ya que una cuestión crítica en el empleo de nuevas técnicas es su seguridad clínica.

9.2. Modo de uso.

1. La indicación de uso de la terapia fotodinámica antimicrobiana es en pacientes con bolsas periodontales profundas de 4 a 9 mm con presencia de sangrado, así que previa a la aplicación de la terapia fotodinámica, se debe realizar el raspado y alisado radicular de la zona a tratar e inmediatamente se puede aplicar la terapia ó de 1 a 2 días después del raspado y alisado radicular. Es importante que no haya presencia de sangrado antes de la aplicación de la terapia ya

que el flujo de sangre impide la correcta entrada del fotosensibilizante a la bolsa por lo que su eficacia se reduce. En caso de que el sangrado no pueda ser controlado se deberá aplicar la terapia de 2 a 6 días siguientes al raspado y alisado radicular. En caso de presencia de sangrado leve a moderado se puede requerir una segunda aplicación inmediata.

2. Se procede a la aplicación del fotosensibilizante de azul de metileno para lograr la tinción de los microorganismos, la aplicación del fotosensibilizante va desde la base de la bolsa en dirección coronal. También se puede irrigar las zonas con el agente fotosensibilizante, colocando la cánula en la base de la bolsa y depositando lentamente la sustancia con movimientos de atrás hacia adelante y en dirección mesiodistal. La irrigación del fotosensibilizante se realiza hasta que se observa una cantidad de líquido fotosensibilizante en el margen gingival. Algunos kits vienen en presentaciones para tratar cuatro y hasta ocho sitios. El tiempo de permanencia del fotosensibilizante en la bolsa es de 1 a 3 minutos.
3. Se debe enjuagar la zona abundantemente con agua o solución salina dependiendo las indicaciones del fabricante, ya que el exceso de fotosensibilizante produce la absorción de solamente el 95% de la energía luminosa.
4. Se realiza la exposición luminosa de forma continua, uniforme y circunferencialmente, en dirección mesio-distal y apico-coronal procurando no sobrepasarla cresta gingival al menos 60 segundos por diente/ cm^2 , lo que aproximadamente corresponde a 3 J/cm^2 . No se debe de exceder los 120 segundos de exposición.

5. El resto del fotosensibilizante que puede permanecer en la zona puede eliminarse mediante la exclusión con aire o la exposición al laser, lo cual disminuye la coloración azul.

6. Se recomienda la limpieza de la fibra óptica entre cada sitio a tratar para que la trasmisión de energía se maximice. Normalmente una aplicación de la terapia es suficiente para lograr resultados benéficos. En caso de la inflamación refractaria, la terapia puede ser repetida después de una semana. Las bolsas mayores a 4 milímetros que presenten sangrado al sondeo deben ser re-tratadas de 3 a 6 semanas después para prevenir el restablecimiento de la biopelícula durante el proceso de cicatrización. Las bolsas profundas responden mejor con una segunda aplicación durante la sesión inicial (Figura 10).

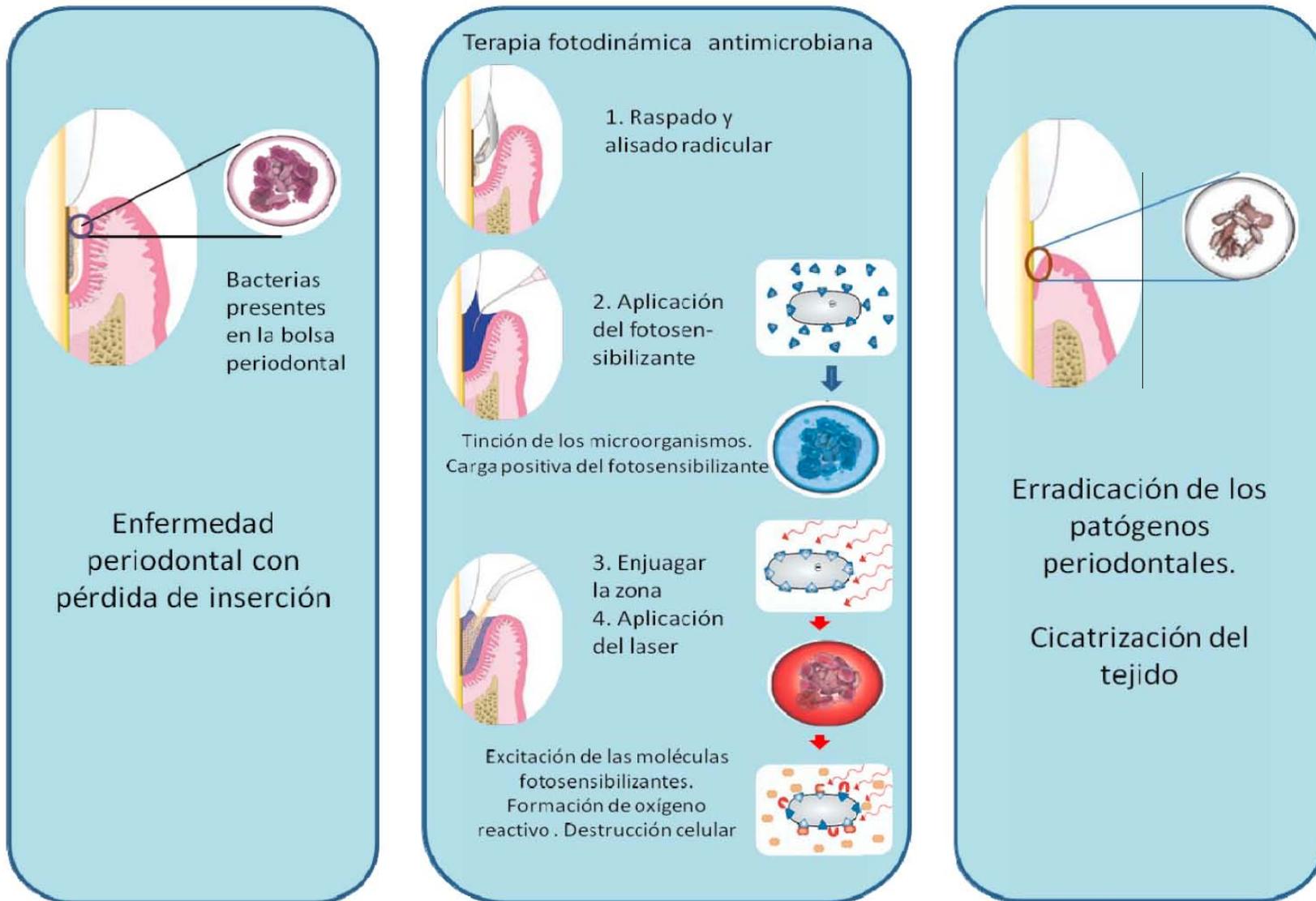


Figura 10. Modo de uso de la terapia fotodinámica antimicrobiana^{10, 14}

9.4. Riesgos y efectos secundarios

Los riesgos y efectos secundarios de la TFD se han clasificado en dos categorías: una relacionada al efecto de la luz por sí misma, y la otra relacionada con el fotosensibilizante y su reacción fotoquímica.

- Respecto a la fuente de luz por sí misma, al hacer uso del láser en el tratamiento, existen algunas reglas y consideraciones que tienen que estar presentes durante la aplicación clínica.
 1. La radiación accidental hacia los ojos del paciente debe ser evitada durante el tratamiento, aún cuando la dosis lumínica es baja. Se debe hacer uso de lentes de protección tanto en el paciente, como en el operador y el asistente.
 2. Durante el tratamiento con laser de alto nivel, se presenta la termogénesis como resultado de la interacción de laser con los tejidos, de tal manera que debe estar bien controlado. No obstante, la longitud de onda del diodo laser muestra gran penetración en los tejidos, no interactúa con los tejidos periodontales dentro de la bolsa o con la corona dental. Por lo tanto, en la terapia fotodinámica, como terapia de bajo nivel, un diodo laser con un periodo corto de radiación, no produce cambios térmicos dentro del tejido gingival y las raíces dentales, ni destrucción en la inserción del tejido en la base de la bolsa. Adicionalmente, la solución fotosensibilizante aplicada puede disminuir la generación de calor dentro de la bolsa periodontal. Sin embargo, se deben evitar los períodos largos de radiación en el mismo punto para prevenir la acumulación térmica o el daño en los tejidos más profundos, como el hueso o la pulpa dental.

- Respecto al fotosensibilizante y sus reacciones fotoquímicas, es importante conocer como las bacterias son agredidas por la aplicación de la TFD sin la presencia de efectos adversos en los tejidos periodontales circundantes. Varias investigaciones realizadas *in vitro*, sugieren que no deberían existir efectos adversos ya que, las bajas concentraciones del fotosensibilizante y la dosis lumínica tienen poco efecto en los tejidos adyacentes. Sin embargo, se debe resaltar que el fotosensibilizante puede presentar acción bactericida, por lo tanto el fotosensibilizante podría ser tóxico a cierta amplitud, así que el efecto en los tejidos periodontales y células no está del todo aclarado.

Además de esto, las tinturas puede comprometer la estética del paciente ya que producen pigmentación temporal de los tejidos periodontales. Se ha propuesto el uso de pastas en lugar de soluciones, debido a que las pastas se pueden remover más fácilmente.¹⁰

9.5. Efectos *in vitro* de la TFD antimicrobiana en las biopelículas.

El efecto bactericida de la TFD antimicrobiana no solo ha sido demostrada utilizando cultivos celulares puros sino también en biopelículas. Los primeros estudios de la TFD antimicrobiana periodontal fueron realizados a principios de los años 90s. En 1992, Dobson y Wilson mostraron que el laser de helio-neón (632.8 nm) en combinación con diferentes sustancias fotosensibilizantes como ftalocianina sulfonada, hematoporfirina, hematoporfirina éster, azul de metileno y azul de toluidina era efectivo contra patógenos periodontales como *Streptococcus sanguis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Aggregatibacter*

actinomycescomitans en biopelículas cultivadas en agar y expuestas al laser durante 30 segundos. Ellos encontraron que el azul de metileno y el azul de toluidina eran efectivos para la eliminación de estas bacterias. Sin embargo, el mayor efecto bactericida lo tuvo la combinación de azul de toluidina O y el láser de He-Ne. Este resultado sugirió que la eliminación de bacterias por medio de la TFD antimicrobiana era efectiva. Además, estos autores también demostraron que con dosis bajas del laser se podía atacar a las bacterias efectivamente ^{10, 38}

Sarkar y Wilson en 1993, reportaron que la radiación con el laser de He-Ne (632.8nm) en combinación con azul de toluidina O era efectiva contra las bacterias de la placa subgingival (*P. gingivalis*, *F. nucleatum* y *Streptococos*) y contra bacterias anaerobias pigmentadas de negro, las muestras fueron tomadas de pacientes con periodontitis crónica.³⁹

Otros estudios comprobaron que la TFD antimicrobiana también podía ser efectiva utilizando otros tipos de fuentes de luz y otros compuestos fotosensibilizantes. Henry y colaboradores en 1995 y 1996 reportaron que las porfirinas endógenas de las bacterias pigmentadas de negro, tales como *P. gingivalis* y *Prevotella*, podían actuar como fotosensibilizantes, y que sin la presencia del compuesto fotosensibilizante, el laser de argón (488 y 514 nm) por sí solo podía atacar a bacterias pigmentadas de negro y que *P. gingivalis* era una de las más susceptibles a la terapia.⁴⁰

En 1997, Bhatti y colaboradores tenían como propósito la fotosensibilización del *Porphyromonas gingivalis* determinando la ^{influencia} de factores dosimétricos y fisiológicos para la absorción del sensibilizador; encontraron

que la concentración óptima del azul de toluidina O para atacar a la *P. gingivalis* era de 12.5 µm/ml seguida de la radiación del láser de He-Ne. Además revelaron que el daño causado al *P. gingivalis* se debía a la alteración de las proteínas de la membrana externa de esta bacteria, esto fue determinado gracias a la examinación con un microscopio electrónico de transmisión.⁴¹

En otro estudio realizado en 1998 por Soukos y colaboradores encontraron que el uso de otras sustancias fotosensibilizadoras como el conjugado de poli-L-lisina y clorina e6 en combinación con un diodo laser (671 nm) era efectiva debido a que mostró efectos bactericidas contra microorganismos en suspensión (*P. gingivalis* y *A. viscosus*) que, además contenían células epiteliales orales, demostrando que los conjugados cationicos eran efectivos hasta en un 99% contra las bacterias utilizadas, y las células epiteliales permanecieron intactas.⁴² En otro estudio en el mismo año, Soukos y colaboradores encontraron que las bacterias presentes en las capas más profundas de la biopelícula también eran atacadas cuando el fotosensibilizante penetraba profundamente dentro de esta seguida de la radiación con el laser.⁴³

En un estudio más realizado por Soukos en 2005 en donde utilizó porfirinas endógenas como sensibilizantes, siendo efectivas contra bacterias pigmentadas de negro (*P. gingivalis*, *S. constellatus* y *Prevotella sp.*). Sugirió que el efecto bactericida de las porfirinas endógenas dependía directamente de su concentración.⁴⁴

O'Neil en 2002, también demostró que la combinación de láser de He-Ne(632 nm) con el fotosensibilizante azul de toluidina O era efectiva para la supresión de múltiples especies de bacterias encontradas en una biopelícula preparada con muestras de saliva de sujetos sanos.⁴⁵

Chan y Lai en el 2003 utilizaron cultivos de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, y *Streptococcus sanguis* para encontrar los diferentes efectos bactericidas a diferentes longitudes de onda con el láser de He-Ne(632.8nm) y el diodo laser(830 mn). Las muestras fueron distribuidas en cuatro grupos diferentes (un grupo control, uno con exposición solamente al laser, uno con exposición solamente al sensibilizante y otro más con exposición al laser y al sensibilizante). Obteniendo como resultado que el mejor efecto bactericida lo tenía la combinación de azul de metileno junto con el diodo laser a 655nm con una potencia de 100 mW, siendo efectiva en un 95-99% contra las especies probadas.⁴⁶

También en el 2003, Matevski y colaboradores utilizaron una fuente de luz convencional (lámpara de xenón, 635 nm) en combinación con azul de toluidina, con el propósito de foto-activar el azul de toluidina O para sensibilizar a *P. gingivalis* y determinar parámetros *in vitro* que pudieran ser usados en estudios *in vivo* a futuro. Su resultado fue que el uso de una fuente de luz convencional es tan eficaz como el uso del laser para suprimir a *P. gingivalis* en presencia de suero o sangre.⁴⁷

Recientemente en el 2008, Qin y colaboradores realizaron un estudio comparando los diferentes parámetros como la intensidad de la luz, dosis de energía y la concentración del azul de toluidina para alcanzar el mayor efecto bactericida utilizando muestras de placa supragingival de pacientes con periodontopatías. Sus resultados revelaron que el mejor efecto terapéutico fue observado con el diodo laser a 12 J/cm^2 con una potencia de 159 mW/cm^2 y con 1 mg/ml de azul de toluidina O. Demostrando que la fotosensibilización *in vivo* de bacterias con azul de toluidina y un diodo laser podría ser posible. Sin embargo, para obtener un efecto bactericida ideal las dosis de luz y del fotosensibilizante tendrían que ser mayores debido a las diferentes condiciones encontradas en una biopelícula *in vivo*.²¹

Todos estos estudios muestran la efectividad de la TFD antimicrobiana, utilizando el fotosensibilizante y las fuentes de luz adecuados con efectos bactericidas, ofreciendo la posibilidad de llevar a cabo estudios *in vivo* para conocer los efectos y efectividad de esta terapia.

La tabla 3 resume los fotosensibilizantes antimicrobianos y las longitudes de onda que se han utilizado en los diferentes estudios de la TFD antimicrobiana.

Fotosensibilizante	Tipo de estudio	Concentración del fotosensibilizante	Luz (longitud de onda)	Parámetros de aplicación y tiempo de exposición	Autor/Año
Azul de toluidina O	In vitro	0.005 %	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW (10 y 30 s)	Dobson y Wilson 1992
		25 µm/ml	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW (80 s)	Wilson et al. 1993
		50 µm/ml	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW (30 s)	Sarkar y Wilson 1993
		100 µm/ml	Laser He-Ne (632.8 nm) Diodo laser (660 nm)	7.3 mW y 11mW respectivamente	Wilson et al. 1995
		12.5, 25, 50 µm/ml	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW	Bhatti et al. 1997
		100 µm/ml	Diodo laser (905 nm)	7.3 mW (60 s)	Haas et al. 1997
		100 µm/ml	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW	Bhatti et al. 2002
		25 µm/ml	Laser He-Ne (632 nm)	35 mW (15 min)	O'Neill et al. 2002
		50 µm/ml	Laser He-Ne (635 nm) Lámpara de Xenón	10, 25 y 100 mW/cm ²	Matevski et al. 2003
		10, 100, 500, 1000 y 2500 µm/ml	Diodo laser (635 nm)	260 mW, 53, 106, 159 y 212 mW/cm ² (14 y 226 s)	Qin et al. 2008

Tabla 3. Fotosensibilizantes antimicrobianos y longitudes de onda utilizadas en la terapia periodontal.¹⁰

Fotosensibilizante	Tipo de estudio	Concentración del fotosensibilizante	Luz (longitud de onda)	Parámetros de aplicación y tiempo de exposición	Autor/Año
Azul de toluidina O	In vivo (ratón)	1 mg/ml	Diodo laser (635 nm)	CW, 61 mW (377 s)	Luan te al. 2007
	In vivo (rata)	25, 50 y 200 µm/ml	Diodo laser (633 nm)	100 mW (5, 8 y 16 min)	Kömerik et al. 2002
		0.01, 0.1 y 1 mg/ml	Diodo laser (630 nm)	100 mW (1, 2, 4 y 8 min)	Kömerik et al. 2003
		1 mg/ml	Diodo laser (635 nm)	CW, 61 mW (75 s)	Qin et al. 2008
		100 µm/ml	Diodo laser (660 nm)	30 mW (133 s)	De Almeida et al. 2008
Azul de metileno	In vitro	0.005%	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW (10 y 30 s)	Dobson y Wilson 1992
		25 µm/ml	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW (80 s)	Wilson et al. 1993
		0.01% (w/v)	Laser He-Ne (632.8 nm) Diodo laser (665 y 830 nm)	30 mW (30 s) y 100 mW (100 s) respectivamente	Chan y Lai 2003
	In vivo (rata)	100 µm/ml	Diodo laser (685 nm)	50 mW (120 s)	De Almeida et al. 2007

Tabla 3. Fotosensibilizantes antimicrobianos y longitudes de onda utilizadas en la terapia periodontal.¹⁰

Fotosensibilizante	Tipo de estudio	Concentración del fotosensibilizante	Luz (longitud de onda)	Parámetros de aplicación y tiempo de exposición	Autor/Año
Azul de metileno	In vivo (rata)	100 µg/ml	Diodo laser (685 nm)	50 mW (120 s)	De Almeida et al. 2008
		0.005 % (w/v)	Diodo laser (685 nm)	CW, 30 mW (71 s)	Yilmaz et al. 2002
	Clínico	0.005 % (w/v)	Diodo laser (670 nm)	CW, 150 mW	Andersen et al 2007
		10 mg/ml	Diodo laser (660 nm)	CW, 60 mW (60 s)	De Oliveira et al. 2007
		10 µm/ml	Diodo laser (660 nm)	CW, 100 mW (60 s)	Braun et al . 2008
		10 µm/ml	Diodo laser (660 nm)	75 mW (60 s)	Chondros et al. 2008
		10 µm/ml	Diodo laser (670 nm)	75 mW (60 s)	Christodoulides et al. 2008

Tabla 3. Fotosensibilizantes antimicrobianos y longitudes de onda utilizadas en la terapia periodontal.¹⁰

Fotosensibilizante	Tipo de estudio	Concentración del fotosensibilizante	Luz (longitud de onda)	Parámetros de aplicación y tiempo de exposición	Autor/Año
Otros compuestos Ftalocianina	In vitro	0.005 %	Laser He-Ne (632.8 nm)	7.3 mW (10 y 30 s)	Dobson y Wilson 1992
Clorina e6	In vivo (perros)	No disponible	Diodo laser (662 nm)	300 mW (20 s)	Sigusch et al. 2005
Porfirinas endógenas	In vitro	-	Laser de Argón (488-514 nm)	0.58 mW	Henry et al. 1995
	In vitro	-	Laser de Argón (488-514 nm)	0.58 mW	Henry et al. 1996
	In vitro	-	Broadband light (380-520)	70 mW/cm ²	Soukos et al. 2005

Tabla 3. Fotosensibilizantes antimicrobianos y longitudes de onda utilizadas en la terapia periodontal.¹⁰

9.5 Efectos *in vivo* de la TFD antimicrobiana en la enfermedad periodontal.

Para comprender la respuesta clínica de la TFD antimicrobiana se han realizado estudios en animales en donde como en la boca humana se encuentran varias bacterias formando biopelículas, con las cuales la terapia podría interferir y así comprobar su eficacia clínica y su seguridad para la aplicación en la terapia periodontal.

Kömerik y colaboradores en 2002 determinaron si *P. gingivalis* podría ser suprimido mediante la fotosensibilización con azul de toluidina en un modelo animal con periodontitis inducida además de observar la presencia de daño a los tejidos periodontales asociados y de establecer si este tratamiento podría tener algún efecto en la pérdida ósea característica de la periodontitis. Sus resultados demostraron que al aplicar azul de toluidina en una concentración de 1 mg/ml en conjunto con un diodo laser había una reducción significativa de *P. gingivalis* lo cual resultaba en una menor pérdida ósea además de que no se observó daño a los tejidos adyacentes. En otro estudio del mismo autor realizado en 2003, se investigó acerca de la distribución y los efectos del fotosensibilizante sobre la mucosa bucal; el fotosensibilizante se aplicó en la mucosa bucal de ratas y se expuso al laser, se tomaron muestras de tejido para su examinación histológica y no se encontró algún signo de necrosis ni inflamación en los tejidos. Mediante imágenes digitales se encontró en el estrato queratinizado de epitelio la fluorescencia que tiene el azul de toluidina siendo menos en las cercanías del tejido conectivo.^{48, 49}

Sigusch y colaboradores en 2005 utilizaron clorina e6 con un diodo laser en perros con periodontitis inducida, encontrando que el *P. gingivalis* era reducida significativamente pero *F. nucleatum* presentaba poca fotosensibilización. Entre otras cosas, también reportaron que el sangrado al sondeo y el enrojecimiento de los tejidos se redujeron, seguramente por la reducción del *P. gingivalis*.⁵⁰

Luan en 2007 investigó si la fotosensibilización con azul de toluidina podía ejercer algún efecto dañino sobre los tejidos periodontales de ratones tomando muestras de las zonas tratadas con esta terapia para su examinación histológica; durante las 72 horas observadas no se registró algún signo de necrosis o inflamación sobre la encía, la dentina, la pulpa dental o el hueso alveolar.⁵¹

En otro estudio realizado en 2008, Qin y colaboradores investigaron la fotosensibilización *in vivo* de las bacterias periodontales de ratas con enfermedad periodontal inducida y compararon su eficacia entre esta terapia y el raspado y alisado radicular. Los sitios de infección se trataron con azul de toluidina 1mg/ml con un diodo laser (12 J/cm^2) o por medio de la terapia mecánica. La eficacia terapéutica de ambas terapias fue evaluada por la reducción total de la flora bacteriana y por los cambios histológicos de los tejidos periodontales. Teniendo como resultados que con ambas terapias había reducción de la flora bacteriana, además de que los signos presentes en la periodontitis, tales como, enrojecimiento, presencia de placa bacteriana, sangrado al sondeo e infiltración de células inflamatorias se redujeron y no se observó algún daño a los tejidos adyacentes, concluyendo que ambas terapias tienen efectos similares.⁵²

Diferentes estudios se han encargado de seguir la progresión de la enfermedad después del tratamiento fotodinámico. De Almeida en 2007 comparó histológica y radiográficamente la progresión de la periodontitis inducida en ratas después del tratamiento con azul de metileno, con el laser o los dos agentes combinados. Los resultados radiográficos mostraron que la TFD tiene un efecto a corto plazo en la reducción de la destrucción de los tejidos periodontales. Sin embargo, a los 30 días no se encontraron diferencias significantes entre los grupos.⁵³ En 2008, de Almeida realizó otro estudio en el cual evaluó histométricamente los efectos de la terapia fotodinámica con azul de metileno y un laser de baja potencia en el tratamiento de furcaciones afectadas por pérdida de hueso en ratas. La TFD mostró un efecto a corto tiempo (de hasta 15 días) en la reducción de la pérdida ósea comparado con el grupo control, el grupo al que aplicaron solo laser y el grupo al que solo aplicaron el fotosensibilizante, pero a los 30 días post-tratamiento no se observó cambio alguno en ninguno de los grupos.⁵⁴ Además, confirmó que la TFD como tratamiento adjunto conlleva a una reducción importante de la pérdida ósea, por medio de la medición histológica e histométrica de esta terapia en ratas diabéticas con periodontitis inducida concluyendo que la TFD antimicrobiana puede ser efectiva como tratamiento adjunto al convencional mecánico en pacientes con periodontitis y modificada sistémicamente con diabetes.⁵⁵

Mediante estos estudios *in vivo* se ha demostrado que con la TFD antimicrobiana existe una reducción de patógenos periodontales, además reduce los signos de inflamación y la pérdida ósea sin daño a los tejidos periodontales adyacentes de una manera efectiva y segura.

La tabla 3 muestra los diferentes estudios *in vivo* realizados de la TFD antimicrobiana y su aplicación en la enfermedad periodontal.

8.6 Efectos clínicos de la TFD antimicrobiana en la enfermedad periodontal.

De acuerdo con el meta-análisis de Azarpazhooh⁵⁶ realizado en 2010 se encontraron cinco estudios clínicos diferentes que reportan el uso de la TFD antimicrobiana como terapia adjunta al tratamiento inicial no quirúrgico o de mantenimiento de la periodontitis crónica y agresiva.

Los criterios para la selección de estos estudios son:

- Tipos de estudios: Se incluyeron ensayos clínicos aleatorios o casi-ensayos clínicos aleatorios de la TFD comparados con un grupo placebo, un grupo sin intervención o sin tratamiento quirúrgico en una población adulta.
- Tipo de participantes: Pacientes adultos (>18 años)
- Tipos de intervenciones: Estudios que utilizaron la TFD para el tratamiento de periodontitis en cualquier dosis o tiempo de duración.

Los estudios comprendían diferentes grupos (placebo, sin tratamiento y con tratamiento no quirúrgico como tratamiento adjunto o independiente). La TFD pudo ser usada como terapia primaria o adjunta a otra terapia no quirúrgica.

- Resultados primarios de las medidas: 1) Nivel de inserción clínica (NI) desde el inicio hasta el seguimiento más largo. 2) Cambios en la profundidad al sondeo.

- Resultados secundarios de las medidas: 1) recesiones gingivales, 2) cambios del sangrado al sondeo, 3) cambios en el índice gingival, 4) cambios en el índice de placa, 5) cambios en la cantidad de placa en toda la boca, 6) cambios en el sangrado en toda la boca, 7) efectos adversos reportados por los autores, 8) cambios microbiológicos y 9) halitosis.

El primero de estos cinco estudios fue realizado en 2002 por Yilmaz y colaboradores quienes asignaron aleatoriamente a un total de diez pacientes para recibir aplicaciones repetidas de raspado y alisado radicular más la TFD (azul de metileno/diodo laser de 30 mW), solo raspado y alisado radicular o instrucciones de higiene supragingival. El azul de metileno sirvió como fotosensibilizante y se utilizó como enjuague bucal. El raspado y alisado radicular se realizó en los días 1 y 7, mientras que la aplicación del laser en cada región papilar (no en la bolsa periodontal) en los días 1, 2, 4, 7, 9 y 11. Después de 32 días del tratamiento, se observaron mejorías en el grupo con raspado y alisado radicular más TFD y en el grupo con solo raspado y alisado radicular, clínicamente se observó mejoría en el nivel de inserción y disminución de la profundidad de la bolsa, microbiológicamente también se observaron mejorías esto se comprobó mediante la toma de muestras a los pacientes. Por el contrario, en los grupos con solo la aplicación de la TFD y el de instrucciones de higiene bucal no reportaron cambios estadísticos importantes. En relación con el tratamiento del laser, no se reportaron efectos adversos (tal como malestar, sensibilidad o dolor) al finalizar la terapia o después de 3 semanas de su aplicación. Como conclusión, los autores indicaron que la TFD antimicrobiana no provee beneficios adicionales microbiológicos y clínicos en comparación con la terapia mecánica convencional. La reducción de la efectividad de la terapia en este estudio puede deberse a la aplicación en la superficie externa de la encía.⁵⁷

Los siguientes dos estudios clínicos aleatorios evaluaron los efectos a corto plazo (hasta un periodo de 3 meses) de la TFD antimicrobiana como terapia adjunta al raspado y alisado radicular en pacientes con periodontitis crónica. El primero de ellos realizado por Andersen y colaboradores en 2007, compararon la efectividad de la TFD antimicrobiana y el raspado y alisado radicular para el tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal moderada y severa, utilizando un diseño de tres estudios paralelos. Un total de 33 pacientes fueron asignados al tratamiento solo con la TFD (azul de metileno/ diodo laser de 50 mW), al tratamiento de raspado y alisado radicular o raspado y alisado radicular mas la TFD. Se realizaron evaluaciones clínicas del sangrado al sondeo, profundidad de la bolsa y el nivel clínico de inserción. Después de 3 meses de tratamiento se observó que la combinación del raspado y alisado radicular mas la TFD obtuvo mejores resultados en todos los parámetros de evaluación sobre el tratamiento con raspado y alisado radicular. Ellos concluyeron que con la realización del raspado y alisado radicular más el uso de la terapia fotodinámica antimicrobiana se podían obtener mejores resultados clínicos que solo realizando el raspado y alisado radicular.¹⁰

En el segundo estudio realizado en 2008 por Braun y colaboradores, evaluaron el efecto de la TFD antimicrobiana en la periodontitis crónica, utilizando un diseño de boca dividida. Veinte pacientes recibieron tratamiento con raspado y alisado radicular y los cuadrantes fueron asignados aleatoriamente para recibir tratamiento adicional con la TFD antimicrobiana.

Después de la permanencia durante 3 minutos del fotosensibilizante se irrigó la zona y el fotosensibilizante permanente se activó durante 10 segundos por sitios (seis sitios en total). Después de 3 meses de tratamiento el uso adjunto de la TFD mostró resultados favorables en el nivel de inserción, la profundidad de la bolsa, la cantidad de fluido del surco y en el sangrado al sondeo a diferencia de los sitios que solamente recibieron el raspado y alisado radicular. Se concluyó que los resultados clínicos de la terapia mecánica convencional podían ser aumentados con el uso adjunto de la TFD en pacientes con periodontitis crónica.⁵⁸

En el año 2008, Christodoulides y colaboradores evaluaron los efectos clínicos y microbiológicos del uso de la TFD antimicrobiana (azul de metileno/diodo laser de 75 mW) como terapia adjunta en el tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal. Un total de 24 pacientes con periodontitis crónica fueron asignados aleatoriamente a cualquiera de los grupos (raspado y alisado radicular seguida de sola aplicación de la TFD o solo raspado y alisado radicular). El fotosensibilizante se aplicó en los sitios instrumentados y enjuagados vigorosamente con solución salina estéril después de 3 minutos. La punta de fibra óptica fue movida circunferencialmente alrededor del diente durante 1 minuto, según lo recomendado por el fabricante. Después de 3 y 6 meses de tratamiento, ambos procedimientos mostraron resultados estadísticos y clínicos importantes en la reducción de la profundidad de la bolsa y en el nivel de inserción. No obstante, no se encontraron cambios significantes de estos parámetros entre ambos grupos. De manera similar ambos tratamientos mostraron cambios microbiológicos similares de los patógenos periodontales comunes, esto se comprobó mediante la toma de muestras a los pacientes y su examinación microscópica. A los 3 y 6 meses de tratamiento, el grupo de prueba mostró

un mejoramiento más visible en los resultados del sangrado de toda la boca, lo cual puede atribuyeron en parte a la foto-biomodulación adicional conseguido por el laser de baja potencia durante la terapia fotodinámica. Basados en esto hecho, concluyeron que una dosis única de esta terapia adjunta al raspado y alisado radicular, no genera cambios importantes en la reducción de la profundidad al sondeo ni ganancia en el nivel de inserción, pero si genera cambios significativos en los resultados de sangrado, lo cual tiene que ser tomado en consideración bajo las condiciones clínicas del paciente.⁵⁹

Solamente un estudio realizado en 2007 por de Oliveira, ha reportado los resultados de esta terapia antimicrobiana como terapia única en el tratamiento de la periodontitis agresiva. A un total de de 10 pacientes se les asignó aleatoriamente mediante un modelo de arcadas divididas al tratamiento mediante la TFD (azul de metileno/ diodo laser de 60 mW) ó raspado y alisado radicular como tratamiento. La aplicación del laser se realizó durante 10 segundos por sitio después de 3 minutos de estancia del fotosensibilizante. Tres meses después, ambos tratamiento mostraron resultados comparables, como en la profundidad de la bolsa, reducción de la profundidad y ganancia en el nivel de inserción, mostrándose un efecto clínico potencial de la TFD como alternativa al raspado y alisado radicular. Los efectos benéficos fueron más evidentes en las bolsas moderadas y poco profundas.⁶⁰



El meta-análisis concluye que los estudios clínicos disponibles no son suficientes para mostrar los beneficios y efectos de esta terapia y que se requieren mayores estudios para demostrar si esta terapia podría ser integrada dentro del tratamiento periodontal y así obtener mejores resultados de la fase no quirúrgica del tratamiento.

La tabla 3 muestra los diferentes estudios clínicos realizados de la TFD antimicrobiana y su aplicación en Periodoncia.

10. SISTEMAS PARA LA APLICACIÓN DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA ANTIMICROBIANA.

Actualmente se encuentran disponibles solo dos sistemas con los cuales se puede llevar a cabo el tratamiento con esta terapia. Estos son el sistema HELBO® Photodynamic Systems GmbH & Co KG y el sistema Periowave™ de Ondine Biopharma Corporation.

10.1. Sistema HELBO®

HELBO® Photodynamic Systems GmbH & Co KG es una empresa cuya sede central se encuentra en Wels, Desde hace más de 12 años HELBO® se dedica a la investigación de terapias con láser y en los últimos ocho años se ha centrado en la terapia fotodinámica antimicrobiana. Este innovador sistema tiene múltiples aplicaciones tanto en odontología como en medicina general.

Los sistemas de terapia que se ofrecen garantizan la eficacia clínica de la terapia fotodinámica antimicrobiana y ofrecen una seguridad óptima debido al cumplimiento de las normas y reglamentos internacionales y la homologación CE de todos los componentes según la normativa de productos médicos.

Los aditamentos que componen este sistema terapéutico para llevar a cabo la TFD antimicrobiana son: un diodo laser (HELBO® TheraLite Laser) con control de resultados integrado y fibra óptica, el cual es un dispositivo ergonómico, pequeño y ligero lo cual permite su fácil manipulación y

movilidad. Cuenta con una cadena funcional garantizada mediante el ajuste detallado de las propiedades ópticas/físicas de los componentes de sistema HELBO®. ^{14, 36}

Con un solo dispositivo láser se cubren todas las indicaciones ya que está diseñado para la terapia con sus diferentes fibras ópticas: HELBO®3D Pocket Probe para conductos radiculares infectados que brinda una exposición luminosa tridimensional y uniforme sobre el conducto radicular y acceso fácil a los conductos, aún siendo curvos; y HELBO®2D Spot Probe para áreas infectadas que provee de una exposición luminosa bidimensional, dirigida a un punto, cuenta con un separador y marcador del campo activo para asegurar la densidad de potencia óptima (Figura 11).³⁶

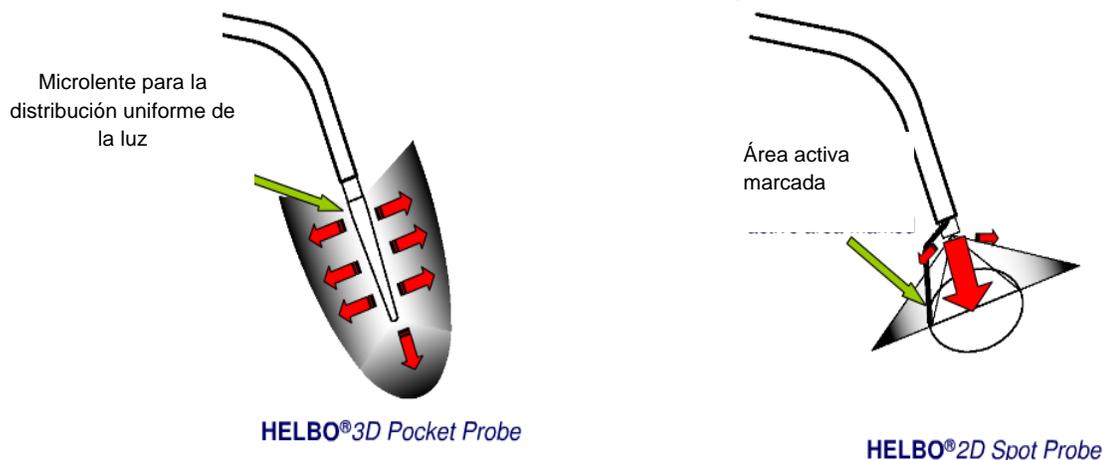


Figura 11. Fibras ópticas del sistema Helbo®.³⁶



Las fibras brindan una exposición luminosa uniforme con protección de sobrecarga gracias a su diseño flexible. Las fibras son encorvadas para un acceso óptimo a todas las áreas, incluso las distales. Además son desechables y estériles para evitar la transmisión de bacterias y para garantizar la potencia de luz necesaria.

El sistema utiliza como sustancia fotosensibilizante el azul de metileno que es una solución estéril sensible a las bacterias. Está contenido en un aplicador de vidrio con cánula angulada suave al tacto. Lo que permite su difusión rápida en las zonas problema debido a su alta concentración haciéndolo simple y seguro de usar.

El HELBO® T-ControllerT = Time & Therapy Control permite un control simple y óptimo de los parámetros de funcionamiento para un éxito seguro de la terapia, además es estético y funcional.

El sistema cuenta con un set de batería ya que funciona mediante acumuladores duraderos y potentes. Esto permite la utilización de los dispositivos independientes de la red. (Figura 12).



Figura 12. Componentes del sistema Helbo®. ¹⁴

10.2. Dispositivo Periowave™

Ondine Biopharma Corporation es una empresa localizada en Vancouver, Canadá cuya misión es ser un líder mundial en el desarrollo y comercialización de terapias no antibióticas de desinfección basado en una plataforma de Tecnología de fotodesinfección. La FDA dio la pre-autorización de venta del Sistema de Fotodesinfección Periowave™ en marzo del 2010 para el tratamiento de la periodontitis crónica en adultos como terapia adjunta al los métodos convencionales de limpieza.

El sistema de desinfección Periowave™ cuenta con una consola base de estación del laser con un cable de luz y una fibra óptica, su diseño ergonómico permite que su limpieza sea fácil para el uso diario. Este sistema permite su esterilización en autoclave, además cuenta con un interruptor de pie.

La sustancia fotosensibilizante es azul de metileno por sus propiedades ya probadas, además de su longitud de onda similar con el laser. Además cuenta con lentes de seguridad y un kit de limpieza para la fibra óptica. (Figura 13).^{61, 62}



Imagen 11. Componentes del sistema Periowave™.⁵⁷

11. CONCLUSIONES

La terapia fotodinámica posee una acción antimicrobiana de tipo local sobre la placa dental, es de uso fácil pero requiere aditamentos especiales para poder llevarla a cabo.

La foto-inactivación de los microorganismos patógenos es un fenómeno complejo que depende de varios parámetros como el tipo de sustancia fotosensibilizante utilizada, su concentración y efecto, el tipo de láser, su longitud de onda y su tiempo de exposición además del tipo de microorganismos que se quiere atacar.

Los estudios *in vivo* e *in vitro* demuestran que la terapia fotodinámica antimicrobiana actúa contra los patógenos periodontales promoviendo de esta manera la cicatrización de los tejidos afectados; sin embargo, estos estudios solo reportan los efectos a corto y mediano plazo pero no se conocen los efectos a largo plazo. Los estudios clínicos disponibles muestran que utilizando la terapia fotodinámica antimicrobiana existe mejorías clínicas como ganancia en el nivel de inserción, reducción de la profundidad de bolsa, disminución del sangrado al sondeo, disminución de la placa dentobacteriana y el restablecimiento de las estructuras periodontales sin daños importantes a los tejidos periodontales, sin embargo estos resultados no son clínicamente significativos en comparación con los procedimientos mecánicos realizados comúnmente los cuales proveen los mismos efectos.



Los resultados de los estudios son limitados y algunos de ellos no muestran grandes ventajas de esta terapia por lo que es necesaria la realización de mas estudios mediante modelos animales para comprobar que no existen riesgos en su uso ni regresión de la enfermedad y que aclaren e investiguen los efectos sobre el restablecimiento de las estructuras periodontales además del costo-beneficio que podría tener si se introdujera como parte de la fase de higiene del tratamiento periodontal.

11. CONCLUSIONES

La terapia fotodinámica posee una acción antimicrobiana de tipo local sobre la placa dental, es de uso fácil pero requiere aditamentos especiales para poder llevarla a cabo.

La foto-inactivación de los microorganismos patógenos es un fenómeno complejo que depende de varios parámetros como el tipo de sustancia fotosensibilizante utilizada, su concentración y efecto, el tipo de láser, su longitud de onda y su tiempo de exposición además del tipo de microorganismos que se quiere atacar.

Los estudios *in vivo* e *in vitro* demuestran que la terapia fotodinámica antimicrobiana actúa contra los patógenos periodontales promoviendo de esta manera la cicatrización de los tejidos afectados; sin embargo, estos estudios solo reportan los efectos a corto y mediano plazo pero no se conocen los efectos a largo plazo. Los estudios clínicos disponibles muestran que utilizando la terapia fotodinámica antimicrobiana existe mejorías clínicas como ganancia en el nivel de inserción, reducción de la profundidad de bolsa, disminución del sangrado al sondeo, disminución de la placa dentobacteriana y el restablecimiento de las estructuras periodontales sin daños importantes a los tejidos periodontales, sin embargo estos resultados no son clínicamente significativos en comparación con los procedimientos mecánicos realizados comúnmente los cuales proveen los mismos efectos.



Los resultados de los estudios son limitados y algunos de ellos no muestran grandes ventajas de esta terapia por lo que es necesaria la realización de mas estudios mediante modelos animales para comprobar que no existen riesgos en su uso ni regresión de la enfermedad y que aclaren e investiguen los efectos sobre el restablecimiento de las estructuras periodontales además del costo-beneficio que podría tener si se introdujera como parte de la fase de higiene del tratamiento periodontal.

12. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Center of laser medicine. Historical Aspects of Photodynamic Therapy Development. [En línea]. 2009. Disponible en: URL: <http://www.magicray.ru/ENG/lecture/L2/2.html>.
2. Wyss P., Tadir Y., Tromberg B.J., Haller U. Photomedicine in Gynecology and Reproduction. Basel (Suiza): Karger; 2000: p. 4-11.
3. Maisch T, Szeimies RM, Jori G, Abels C. Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3(10): 907-917.
4. Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers Med Sci* 2007; 22(2): 83–91.
5. Moreno AGA, Eng LA, Alvarado DA, Camps FA. Terapia fotodinámica. *Med Cutan Iber Lat Am* 2007; 35(6): 255-68.
6. Sharman WM, Allen CM, van Lier JE. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discov Today* 1999; 4(11): 507–517.
7. Wikipedia. Paul Erlich. [En línea]. [Febrero, 2009?]. Disponible en: URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Paul_Ehrlich.
8. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemoter* 1998; 42(1):13-28.
9. Foote CS. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem Photobiol* 1991; 54(5): 659.

10. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Wang CY, Koshy G, Romanos G, Ishikawa I e Izumi Y. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontol* 2000 2009;5: 109-140.
11. Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *J Photochem Photobiol B* 2005; 79(2): 159-170.
12. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res* 2007;86(8): 694-707.
13. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?. *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3(5): 436–450.
14. HELBO Photodynamic Systems GmbH & Co KG. [En línea]. 2009. Disponible en: URL: [http:// www.helbo.de/es/pagina-de-inicio.html](http://www.helbo.de/es/pagina-de-inicio.html).
15. Malik Z, Ladan H, Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. *J Photochem Photobiol B* 1992; 14(3): 262-266.
16. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Diccionario médico. [En línea]. 2010. Disponible en: URL: <http://www.asmainfantil.com/frontend/asmainfantil/letras.php?letra=f>.
17. Grupo TechSphere. Photofrin. Tratamiento fotodinámico. [En línea]. 2008. Disponible en: URL: <http://www.photofrin.com.ar/pdf/informacion-para-pacientes-1.pdf>.
18. Grupo TechSphere. Photofrin (porfímero sódico). [En línea]. 2008. Disponible en: URL: <http://www.photofrin.com.ar/>.
19. Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. *Lasers Surg Med* 2001; 29(2): 165–173.

20. Wainwright M, Byrne MN, Gattrell MA. Phenothiazinium-base photobacterial materials. *J Photochem Photobiol B* 2006 ; 84: 227-230.
21. Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. The role of the methylene blue and toluidine blue monomers and dimmers in the photoinactivation of bacteria. *J Photochem Photobiol B* 2003; 71: 87-98.
22. Qin Y, Luan X, Bi L, He G, Bai X, Zhou C, Zhang Z. Toluidine blue-mediated photoinactivation of periodontal pathogens from supragingival plaques. *Lasers Med Sci* 2008; 23(1): 49–54.
23. Wikipedia. Láser. [En línea] 2010. Disponible en: URL: <http://es.wikipedia.org/wiki/Laser>.
24. Cobb CM. Lasers in periodontics: a review of the literature. *J Periodontol* 2006; 77(4): 545–564.
25. Brancalion L, Moseley H. Laser and non-laser light sources for Photodynamic Therapy. *Lasers Med Sci* 2002; 17(3): 173-186.
26. Ariza G. G. Aplicación del láser para tejidos duros en operatoria dental. *Trib Odonto* [En línea]. 2003: 1(3). Disponible en: URL: <http://www.medilegis.com/BancoConocimiento/O/Odontologica-v1n3/contenido.htm>.
27. Oltra AD, España TAJ, Berini AL, Gay EC. Aplicaciones del láser de baja potencia en Odontología. *RCOE*. 2004: 9 (5): 517-524.
28. Wikipedia. Diodo láser [En línea]. Febrero. 2010. Disponible en: URL: http://es.wikipedia.org/wiki/Diodo_laser.
29. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in non surgical periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2004; 36: 59-97.
30. Wikipedia. Diodo emisor de luz. [En línea]. Febrero 2010. Disponible en: URL: http://es.wikipedia.org/wiki/Diodo_emisor_de_luz.

31. Wilson M. Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3(5): 412–418.
32. Zanin IC, Goncalves RB, Junior AB, Hope CK, Pratten J. Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an in vitro study. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56(2): 324–330.
33. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, Tanner AC, Kent R, Doukas AG, Stashenko PP, Soukos NS. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. *J Endod* 2008; 34(6): 728–734.
34. Aghahosseini F, Arbabi-Kalati F, Fashtami LA, Djavid GE, Fateh M, Beitollahi JM. Methylene blue-mediated photodynamic therapy: a possible alternative treatment for oral lichen planus. *Lasers Surg Med* 2006; 38(1): 33–38.
35. Slots J. The search for effective, safe and affordable periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2002; 28: 9–11.
36. Documents for small business and professionals. Photodynamic therapy Helbo System. [En línea]. 2010. Disponible en : URL: http://www.docstoc.com/docs/18457849/PowerPoint-Pr_sentation.
37. Liu, PF, Zhu WH, Huang CM. Vaccines and Photodynamic Therapies for Oral Microbial-Related Diseases. *Current Drug Metabolism* 2009(10); 90-94.
38. Wilson M, Burns T, Pratten J, Pearson GJ. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. *J Appl Bacteriol* 1995; 78(5): 569–574.
39. Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 1993; 28(3): 204–210.

40. Henry CA, Dyer B, Wagner M, Judy M, Matthews JL. Phototoxicity of argon laser irradiation on biofilms of *Porphyromonas* and *Prevotella* species. *J Photochem Photobiol B* 1996; 34(2-3): 123–128.
41. Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Photochem Photobiol* 1997; 65(3): 1026–1031.
42. Soukos NS, Ximenez-Fyvie LA, Hamblin MR, Socransky SS, Hasan T. Targeted antimicrobial photochemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(10): 2595–2601.
43. Soukos NS, Mulholland SE, Socransky SS, Doukas AG. Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photomechanical waves in an oral biofilm model. *Lasers Surg Med* 2003; 33(3): 161–168.
44. Soukos NS, Som S, Abernethy AD, Ruggiero K, Dunham J, Lee C, Doukas AG, Goodson JM. Phototargeting oral blackpigmented bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(4): 1391–1396.
45. O'Neill JF, Hope CK, Wilson M. Oral bacteria in multispecies biofilms can be killed by red light in the presence of toluidine blue. *Lasers Surg Med* 2002; 31(2): 86–90.
46. Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci* 2003; 18(1): 51–55.
47. Matevski D, Weersink R, Tenenbaum HC, Wilson B, Ellen RP, Lepine G. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. *J Periodontal Res* 2003; 38(4): 428–435.

48. Komerik N, Curnow A, MacRobert AJ, Hopper C, Speight PM, Wilson M. Fluorescence biodistribution and photosensitizing activity of toluidine blue o on rat buccal mucosa. *Lasers Med Sci* 2002; 17(2): 86–92.
49. Komerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(3): 932–940.
50. Sigusch BW, Pfitzner A, Albrecht V, Glockmann E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *J Periodontol* 2005; 76(7): 1100–1105.
51. Luan XL, Qin YL, Bi LJ, Hu CY, Zhang ZG, Lin J, Zhou CN. Histological evaluation of the safety of toluidine blue-mediated photosensitization to periodontal tissues in mice. *Lasers Med Sci* 2009; 24(2): 162–166.
52. Qin YL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodontal Res* 2008; 43(2): 162–167.
53. De Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 2007; 78(3): 566–575.
54. De Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. *J Periodontol* 2008; 79(6): 1081–1088.

55. De Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Bonfante S, Garcia VG. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in diabetes. *J Periodontol* 2008; 79(11): 2156–2165.
56. Azarpazhooh A, Shah PS, Tenenbaum HC, Goldberg MB, The effect of photodynamic therapy for periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2010; 81(1): 4-14
57. Yilmaz S, Kuru B, Kuru L, Noyan U, Argun D, Kadir T. Effect of gallium arsenide diode laser on human periodontal disease: a microbiological and clinical study. *Lasers Surg Med* 2002; 30(1): 60–66.
58. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2008; 35(10): 877–884.
59. Christodoulides N, Nikolidakis D, Chondros P, Becker J, Schwarz F, Rossler R, Sculean A. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 2008; 79(9): 1638–1644.
60. De Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol* 2007; 78(6): 965–973.
61. Ondine Biopharma Corporation. [En línea]. 2009. Disponible en: URL: <http://www.ondinebiopharma.com/index.php?id=1&refurl=%2Findex.php%3Fid&err=1>.
62. Ondine Biopharma Corporation. Periowave. [En línea]. 2007. Disponible en: URL: <http://www.periowave.com/en/Homepage.aspx>.