

“Control de la infección en Endodoncia mediante Terapia Fotodinámica”

Autora: Dra. Francisca Martegani

Tutora: Profa. PhD. Dra. Beatriz Vilas

Carrera de Especialización en Endodoncia
Escuela de Graduados – Facultad de Odontología
Universidad de la República
Montevideo, Uruguay

2024



Resumen

La terapia fotodinámica antimicrobiana es una estrategia por medio de la cual se busca la inactivación fotodinámica de ciertas células mediante la aplicación exógena de una sustancia fotosensibilizante. Implica la interacción de tres componentes fundamentales, una sustancia fotosensibilizadora, una fuente lumínica que puede ser luz láser o luz LED y el oxígeno del medio. De la misma surge una serie de reacciones químicas que generan un efecto antimicrobiano en bacterias, hongos y virus. Ha sido estudiada en materia de endodoncia ya que uno de los principales objetivos de la misma consiste en la eliminación de la mayor cantidad posible de microorganismos del sistema de conductos radiculares y sus tejidos adyacentes. La microbiota endodóntica está compuesta por microorganismos que pueden ser resistentes a ciertas medicaciones utilizadas diariamente. Los investigadores han puesto el foco en estas especies y su erradicación mediante la terapéutica obteniendo resultados prometedores. Es por esto que la terapia fotodinámica antimicrobiana resulta de interés en el control de la infección en Endodoncia.

Palabras clave: Endodontics, Laser Phototherapy, Low-Level Laser Therapy, Infection Control, Biofilms.

Abreviaturas

ADN- Ácido desoxirribonucleico

ATP – Adenosina trifosfato

CO₂ – Dióxido de carbono

HLLT – High level laser therapy

LAI – Laser activated irrigation

LASER – Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

LED – Light emitting Diode

LLLT – Low level laser therapy

MASER – Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation

PDT – Photodynamic Therapy

PDTa – antimicrobial Photodynamic Therapy

PIPS – Photon-Induced Photoacoustic Streaming

ROS – Reactive oxygen species

Sumario

1. Introducción	1-2
2. Objetivos	3
2.1 Genera	
2.2 Específicos	
3. Metodología	4
4. Desarrollo	5
4.1 Infección endodóntica	
4.1.1 Vías de entrada al sistema de conductos radiculares	6-8
4.1.2 Clasificación de la infección endodòntica	8-12
4.1.3 Estrategias microbianas	12-15
4.2 Láser	
4.2.1 Generalidades	16
4.2.2 Física y características de la luz láser	16-21
4.2.3 Composición del equipo láser	22- 23
4.2.4 Interacción del láser con los tejidos biológicos.....	24-27
4.2.5 Clasificaciones de los equipos láser	27-30
4.2.6 Aplicaciones del láser en endodoncia	31-37
4.3 Terapia fotodinámica antimicrobiana	
4.3.1 Mecanismo de acción	38-50
4.3.2 Aplicaciones clínicas	50-53
5. Discusión	54-56
6. Conclusiones	57
7. Referencias	58-63
8. Agradecimientos	64

1. INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas de fracaso en endodoncia es la persistencia de microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares por no ser eliminados correctamente o por su penetración luego de comenzado el tratamiento. Esto puede ocurrir por diferentes causas. Las fallas en la aislación absoluta, un pobre sellado coronario o la pérdida del mismo entre sesiones son factores que pueden modificar los resultados obtenidos en el objetivo de la erradicación de microorganismos en endodoncia (1). A lo largo de la historia se han estudiado diversos procedimientos tendientes a controlar la infección endodóntica con el fin de llegar a niveles inocuos para el organismo (2). Con el estudio de nuevas tecnologías en endodoncia, se han logrado grandes avances, obteniendo resultados más predecibles en la terapéutica (3).

Uno de los pilares fundamentales de la endodoncia es el conocimiento de la estructura dentaria y su anatomía, la relación de cada pieza con las estructuras vecinas y con los demás componentes del sistema estomatognático. Esto debe ser relacionado con una correcta lectura radiográfica. El sistema de conductos es un sistema complejo, donde los conductos principales dejan de ser los protagonistas al tener en cuenta la existencia de conductos furcales, secundarios, istmos y deltas apicales. Estos son muy difíciles de acceder tanto por el instrumento de conformación como por la irrigación por medio de sustancias químicas y la medicación tópica intraconducto (2). Durante la etapa de conformación del conducto quedan zonas que no son alcanzadas por los diferentes instrumentos utilizados, independientemente de la técnica de instrumentación utilizada (3). Peters et al. estudiaron la superficie del conducto radicular en la que no se observaron modificaciones luego de haberlo conformado mediante cuatro técnicas diferentes de conformación con instrumental de níquel-titanio. Observaron que independientemente de la secuencia de instrumental utilizada, un 35% del conducto radicular quedaba sin conformar y por lo tanto en esas zonas se daba la acumulación de microorganismos, restos pulpares y detritos (4).

La infección endodóntica ocurre en los conductos radiculares por ausencia de respuesta del huésped y sus mecanismos de defensa ante diferentes injurias. La misma se desarrolla como consecuencia de la necrosis pulpar o posterior a la extirpación al generarse la contaminación del sistema de conductos radiculares por penetración de microorganismos (5). La microbiota endodóntica es variada y heterogénea. El clínico debe conocerla para tener en cuenta los procedimientos a llevar a cabo durante el tratamiento. Se ha demostrado que los microorganismos presentes en casos de

fracasos posteriores a la realización del tratamiento endodóntico tienen altos niveles de resistencia a ciertas medicaciones tópicas utilizadas en endodoncia y son por lo tanto más difíciles de erradicar (1).

El interés por la reducción de las bacterias, hongos y virus en la terapéutica endodóntica llevó a la búsqueda de nuevas tecnologías. Los últimos 30 años han sido de cambios y progresos constantes en la materia. El uso de luz láser como coadyuvante al tratamiento odontológico ha abierto nuevas puertas en el área de investigación. L.Á.S.E.R. es el acrónimo de Luz Amplificada por Emisión Estimulada de la Radiación. Dentro de la endodoncia la luz láser es utilizada en una amplia variedad de casos, desde el diagnóstico pulpar, tratamientos conservadores, tratamientos de pulpotomías, apexificación, cirugías paraendodónticas y traumatismos hasta el control de la infección intrarradicular (6).

En el interés de la reducción de microorganismos del sistema de conductos radiculares surge la terapia fotodinámica antimicrobiana o antimicrobial photodynamic therapy (PDTa). Es una estrategia por medio de la cual se busca la inactivación fotodinámica de los agentes microbianos mediante la aplicación exógena de una sustancia fotosensible. Se utiliza como un método coadyuvante a la terapéutica convencional, no busca sustituir sino complementar para mejorar los resultados clínicos (7,8).

2. OBJETIVOS

2.1 General

Realizar una revisión de la literatura disponible sobre la aplicación de la terapia fotodinámica antimicrobiana para el control de la infección en la terapéutica endodóntica.

2.2 Específicos

- i) Profundizar sobre la microbiología endodóntica y la acción de la terapia fotodinámica sobre ésta.
- ii) Describir las técnicas utilizadas en la terapia fotodinámica.

3. METODOLOGÍA

La revisión realizada es de tipo descriptiva (según la clasificación de Squires) y narrativa (según la clasificación de la PBE) (9).

Para su elaboración se aplicaron criterios de inclusión como ser artículos y libros en español, inglés y portugués.

Se emplearon los descriptores: Endodontics, Laser Phototherapy, Low-level Laser Therapy, Infection Control, Biofilms, y sus correspondientes en español.

Los límites de búsqueda fueron del año 2010 a la fecha, con la excepción de algunos artículos de años anteriores referenciados por los artículos primarios. Se utilizaron tanto fuentes impresas como electrónicas.

Se excluyeron reportes de casos y trabajos de literatura gris.

Se seleccionaron 76 artículos de los 218 documentos encontrados. Se completó la búsqueda con la lectura y rastreo de literatura referenciada en los artículos así como también en libros de texto.

Las bases de datos electrónicas consultadas fueron: SciELO, PubMed, Scopus, portal Timbó, Lilacs, Google Académico, Biblioteca Virtual en Salud.

4. DESARROLLO

4.1 Infección endodóntica

El conocimiento de la microbiota, su forma de interacción y factores de virulencia presentes en los diferentes cuadros clínicos, conduce al logro de resultados exitosos en el tratamiento endodóntico. En condiciones normales la pulpa se presenta estéril y confinada por tejidos duros dentarios que la protegen. Ciertas situaciones pueden alterar esta protección facilitando la propagación de la infección endodóntica (10). El complejo dentinopulpar junto con los tejidos perirradiculares pueden verse alterados por diferentes causas: traumáticas, iatrogénicas, por enfermedad periodontal avanzada, como consecuencia de un procedimiento quirúrgico o por la penetración de microorganismos al sistema de conductos radiculares. Esta última es la causa más frecuente. Dentro de los microorganismos presentes en la infección endodóntica se han encontrado bacterias, hongos, virus y arqueas (5).

En el siglo XVII se da el primer relato de presencia de organismos vivos en el sistema de conductos radiculares. El científico holandés Antony Van Leeuwenhoek, fue el primero en observar organismos con vida en una lesión cariosa a los cuales les llamó habitáculos. En esta época aún se desconocía el rol de las bacterias en el proceso carioso. En el año 1894, Willoughby Dayton Miller estudia la existencia de microorganismos por medio de microscopía en los conductos radiculares, identificando diferentes formas, como ser cocos, bacilos y espiroquetas. Miller escribe sobre la posibilidad de relación entre los microorganismos presentes en el conducto radicular con la patología perirradicular, pero no logra demostrarlo (10). Setenta años más tarde las suposiciones de Miller son confirmadas por Kakehashi y col., quienes realizan una investigación generando la exposición pulpar en piezas dentarias vitales de ratas, por lo tanto, en pulpa con condiciones de esterilidad. Estudiaron la respuesta del tejido pulpar luego del contacto con microorganismos, demostrando que la exposición pulpar a microorganismos patógenos desencadena siempre un proceso de inflamación (11).

A mediados de la década de 1970, tras estudiar la microbiota de origen endodóntico se observó el predominio de microorganismos facultativos, encontrando especies como *Streptococcus*, *Enterococos*, *Staphylococcus*, *Lactobacilos*, *Pseudomonas* y *Candida albicans* en el sistema de conductos radiculares. En 1981 Miller y col. estudiaron la relación entre los microorganismos del conducto radicular con la lesión perirradicular, confirmando el rol de los mismos en este tipo de patogenia en casos de necrosis séptica o aséptica. Mas adelante, Ricucci y Siqueira reportan la asociación de los

microorganismos en forma de biofilms, siendo estos hallazgos de gran relevancia clínica (10).

Por lo antedicho ante ciertas injurias las defensas del hospedero actúan para evitar que se instale la infección en el tejido. En condiciones de normalidad los tejidos que rodean a la cavidad pulpar actúan como barrera mecánica defensiva para evitar la agresión pulpar. Al establecerse el contacto de los microorganismos con la pulpa comienza un proceso de inflamación, en el cual se dan cambios a nivel vascular y celular en los tejidos. Se genera vasodilatación y un aumento de la permeabilidad vascular lo que ocasiona un aumento de la presión intrapulpar. Esto puede generar inflamación severa, dando origen a cuadros de pulpitis irreversibles que se acompañan de dolor intenso. En etapas avanzadas, por diferentes cambios en los tejidos, se puede desencadenar la necrosis pulpar (10). Al ocurrir la misma, la pulpa queda propensa a la penetración de microorganismos que colonizan e invaden el sistema de conductos radiculares. Se da un proceso de migración de la infección hacia la zona apical del diente lo que favorece la penetración de los agentes infecciosos a los tejidos perirradiculares. Al lograrlo se desencadenan una serie de respuestas inflamatorias e inmunológicas, instalándose un cuadro de periodontitis apical. La periodontitis apical es una enfermedad de tipo inflamatoria con etiología principalmente microbiana, cuyo carácter clínico depende del tipo de microorganismos presentes (12). El mismo puede darse de forma sintomática o asintomática y se comienza a producir un proceso inflamatorio dentro del cual puede ocurrir la reabsorción de los tejidos óseos o la formación de un absceso con contenido purulento (13). Como consecuencia de la interacción entre las bacterias y las células del hospedero se generan daños indirectos en los tejidos. La liberación de citoquinas genera un proceso de reabsorción ósea por estimulación de los osteoclastos (14).

4.1.1. Vías de entrada de los microorganismos al sistema de conductos radiculares

Existen diferentes vías de penetración de los microorganismos al sistema de conductos radiculares. La más frecuente es la que se da por medio de las lesiones cariosas, cuyo avance se resume en la figura 1 (10).

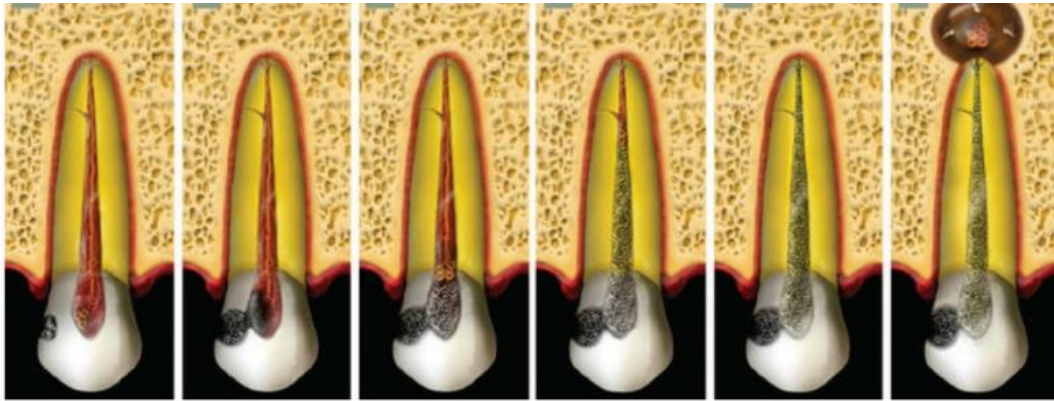


Fig. 1. Dinámica del proceso patológico pulpar iniciado en la progresión de una lesión cariosa (10).

Los microorganismos pueden acceder a la pulpa por medio de los túbulos dentinarios aún en casos sin exposición pulpar franca. Estos se encuentran presentes en un 20% a 30% del volumen total de la dentina. La cantidad de túbulos dentinarios aumenta al acercarse a la unión dentinopulpar, con un valor aproximado de 45.000 túbulos/mm². Al alejarse de la pulpa la cantidad de túbulos se reduce a aproximadamente 15.000 túbulos/mm² disminuyendo también su diámetro (10). La mayoría de las especies bacterianas tienen un tamaño de 0.2 a 0.7 μm , siendo el diámetro más pequeño que el de los túbulos dentinarios de 0.9 μm . En pacientes con bruxismo el diámetro de los túbulos es aún mayor (5). Los fluidos dentinarios, prolongaciones odontoblásticas y fibras colágenas presentes dentro de los túbulos dentinarios en una pulpa sana, retrasan la invasión microbiana por sus mecanismos de defensa. Otros factores como la esclerosis dentinaria, la aposición de dentina terciaria, la formación de barrillo dentinario y el fibrinógeno intratubular, reducen la permeabilidad de los túbulos dentinarios y limitan la progresión microbiana. Por lo tanto, los túbulos dentinarios de dientes tratados endodónticamente o con diagnóstico de necrosis pulpar son fácilmente invadidos por microorganismos (10).

En la figura 2 se observan esquemáticamente las diferentes vías de entrada de los microorganismos al sistema de conductos radiculares y las repercusiones tisulares.

En otros casos la vía de penetración microbiana a la pulpa, es por su exposición directa a la cavidad bucal, ya sea por un traumatismo, caries o por iatrogenia.

El acceso microbiano puede también darse desde el surco periodontal. Los agentes patógenos pueden penetrar hacia la cavidad pulpar desde conductos laterales, delta apical, foramen apical, por medio de la furca y los conductos furcales y por túbulos dentinarios que hayan quedado expuestos a nivel radicular. Este proceso se ve facilitado

cuando hay una bolsa patológica, en piezas con antecedentes de raspado y alisado que dejó túbulos expuestos a nivel cervical. La pérdida de continuidad de los tejidos dentarios por fisuras o fracturas también es una vía de ingreso directa, pudiendo haber exposición pulpar o por medio de los túbulos dentinarios. Es muy frecuente en pacientes bruxómanos y en dientes restaurados con amalgama, sobre todo en segundos molares inferiores (con mayor frecuencia en sentido mesio-distal). En aquellas pulpas que están con su respuesta defensiva disminuida por haber tenido un traumatismo, presentar restauraciones profundas o lesiones cariosas, son más proclives al ingreso de microorganismos por medio del foramen apical (5).

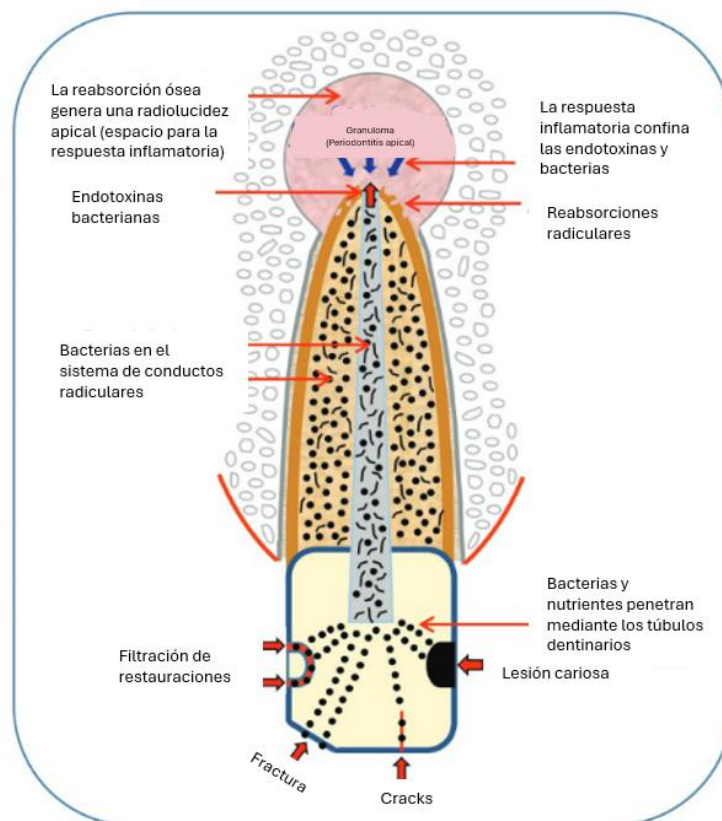


Fig. 2. Vías de entrada de los microorganismos al sistema de conductos radiculares (15).

4.1.2. Clasificación de la infección endodóntica

Varios factores condicionan el tipo de microbiota presente en el conducto radicular, incluyendo la tensión de oxígeno del medio, la cantidad y calidad de los nutrientes presentes, temperatura e interacciones microbianas.

La infección endodóntica puede clasificarse según su **momento de establecimiento** en primarias, secundarias o persistentes y según su **localización** en intrarradicular o extrarradicular (5).

En los comienzos de la interacción de los microorganismos con la pulpa dental hay una predominancia de microorganismos facultativos. Con el pasar del tiempo existe una disminución del tenor de oxígeno y nutrientes del medio, por un corte en el flujo sanguíneo tras la necrosis pulpar y por la consumición del oxígeno por el propio metabolismo de las bacterias facultativas, lo que genera un aumento en la cantidad de bacterias anaerobias estrictas. A medida que evoluciona la infección intrarradicular estas condiciones se encuentran aún más pronunciadas proporcionando un microclima favorable para el desarrollo de bacterias anaerobias estrictas (11). Además, la localización de los microorganismos en el sistema de conductos determina la cantidad de oxígeno disponible, siendo que en la zona apical las bacterias dominantes son las anaerobias estrictas. Esta condición aumenta durante el avance de la infección (13).

A) Infección endodóntica primaria

La infección endodóntica primaria es la que se instala de forma inicial por los microorganismos que colonizan en la cavidad pulpar y por lo tanto sobre los tejidos necróticos (16). Es una infección de tipo polimicrobiana o mixta. La comunidad de microorganismos estudiada se compone de 10 a 30 especies con una cantidad de 10^3 a 10^8 por conducto, donde predominan las especies anaerobias (17). Dentro de los microorganismos Gram negativos presentes en las infecciones primarias se destacan especies de los géneros *Dialister*, *Treponema*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella* y *Tanerella forsythia* (13). También se pueden encontrar espiroquetas, bacterias Gram negativas de forma espiralada que presentan la particularidad de tener flagelos periplásmicos que le dan la propiedad de movilidad.

Dentro de las bacterias Gram positivas se encuentran especies de *Pseudoramibacter alactolyticus* en cantidades tan elevadas como las Gram negativas. El género *Filifactor alocis* ha sido cultivado en aproximadamente la mitad de los casos de infecciones primarias. Especies de *Actinomyces*, particularmente *A. gerencseriae* y *A. israelii* se han detectado en el 10% de los casos. *Propionibacterium propionicum* y otras especies como *Micromonas*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus olsenella*, *Cutibacterium acnes* se pueden cultivar a partir de este tipo de infección (10,13).

B) Infección endodóntica secundaria

Es causada por microorganismos oportunistas que no estaban presentes en la infección primaria, pero logran acceder al conducto radicular de forma secundaria a la intervención endodóntica. Algunos de los factores que facilitan el desarrollo de este tipo de infección son: aislación absoluta filtrando fluidos, pérdida de obturación temporaria entre sesiones, fractura de la pieza, pérdida de restauración posterior al tratamiento, lesiones cariosas recurrentes y retraso en la colocación de la restauración definitiva (12).

La variedad de microorganismos en las infecciones secundarias se ven disminuidas. Se describen de 10 a 20 taxones diferentes. En su mayoría son Gram positivos y anaerobios facultativos (16). Los mismos son mas resistentes al tratamiento antimicrobiano y se adaptan mejor a las condiciones ambientales (12). Dentro de las bacterias Gram positivas podemos encontrar *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus faecalis*. Las bacterias Gram negativas que son comunes en la infección primaria usualmente se ven reducidas a excepción de *Fusobacterium nucleatum*, algunas *Prevotellas* y *Campylobacter rectus* (16).

C) Infección endodóntica persistente

Si luego de la realización de un tratamiento endodóntico se da la aparición de nuevos síntomas o signos clínicos, o persisten los manifestados previamente, significa que aún está presente una infección con cierto grado de actividad. La permanencia de microorganismos luego del tratamiento químico-mecánico de los conductos radiculares es la principal causa de fracaso del tratamiento endodóntico (11). Esto da origen a una infección de tipo persistente. Son causadas por microorganismos presentes tanto en infecciones primarias como secundarias (16). Las bacterias encontradas con mayor frecuencia en estos casos son Gram positivas y la cantidad y diversidad de especies encontradas es reducida en comparación con los demás tipos de infección (11). En piezas tratadas endodónticamente asociadas a un proceso de periodontitis apical se localizan entre 10^3 a 10^7 microorganismos por conducto radicular. Se han encontrado mayores recuentos microbianos en piezas con obturaciones deficientes, los cuales se componen de especies provenientes tanto de infecciones intraradiculares como extraradiculares (12).

Enterococcus Faecalis es la especie con mayor prevalencia en este tipo de infecciones. Algunas especies de *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Cutibacterium acnes*,

Pseudoramibacter alactolyticus, *Arachnia propionica*, especies de *Dialister*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromona micra* y especies de *Prevotella* incluyen los géneros investigados en este tipo de infección. *Enterococcus faecalis* son microorganismos Gram positivos, anaerobios facultativos, de la especie de bacterias cocáceas. Son bacterias capaces de agruparse en forma de biofilms lo que hace más compleja su eliminación (5). Además, posee la capacidad de sobrevivir a ambientes sin oxígeno y a un pH alcalino. Admiten altas temperaturas (entre 45 y 50 grados), lo que los hace muy difíciles de combatir (18).

Dentro de los microorganismos que se localizan en cuadros de infecciones persistentes están los hongos. Son microorganismos eucarióticos que se presentan principalmente en forma de levaduras, pero existen también en forma de hifas. *Candida albicans* es frecuentemente asociada a fracasos endodónticos, es muy resistente a agentes antimicrobianos como ser el hidróxido de calcio. Es capaz de invadir túbulos dentinarios. En infecciones primarias los hongos pueden verse asociados a bacterias, a diferencia de la infección persistente en la cual los hongos pueden presentarse en forma de mono infección (10,18).

Tanto *Enterococcus faecalis* como *Candida albicans* toleran bien pH cercanos a 12, por lo que el hidróxido de calcio utilizado como medicación intraconducto no tiene acción sobre este tipo de microorganismos. Esto es fundamental a tener en cuenta en el momento de decidir que medicación tópica utilizar. Se puede asociar el hidróxido de calcio con otros tipos de medicaciones u optar por terapéuticas coadyuvantes al tratamiento convencional endodóntico (11).

Los virus son partículas inanimadas compuestas por un ácido mono nucleico y una cobertura proteica. Al no tener un metabolismo propio, actúan como parásitos intracelulares infectando células del huésped generando cambios en su metabolismo. Por lo tanto, no logran colonizar en conductos con necrosis pulpar por la ausencia de células vivas. Se han encontrado virus de inmunodeficiencia humana (HIV) en pulpas vitales de personas seropositivas y casos de herpes virus en lesiones perirradiculares (5,10).

D) Infección intrarradicular y extrarradicular

En la mayoría de las lesiones perirradiculares, las bacterias logran ser confinadas en el ambiente intrarradicular. Al superar esta barrera las bacterias pueden invadir los tejidos

extrarradiculares originando infecciones más complejas de erradicar. La forma clínica más común de diagnosticar una infección de este tipo es el absceso dentoalveolar agudo (10). Puede darse también de forma asintomática, aunque no es la presentación más común (19). Los microorganismos presentes en infecciones radiculares externas también logran adherirse a la superficie radicular externa y colonizar en forma de biofilm (10).

4.1.3 Estrategias microbianas

En el estudio de la infección endodóntica se han reportado más de 450 especies bacterianas, que pertenecen a 100 géneros diferentes. Entre 20 y 30 especies, son las que se consideran como las más prevalentes. Hongos, virus y arqueas también forman parte de este tipo de infección, pero las bacterias son consideradas como los principales microorganismos patógenos causantes de la periodontitis a nivel apical, por su prevalencia y dominancia (12,13).

La periodontitis apical se da por una infección heterogénea, donde participan múltiples cepas de microorganismos. Se ha estudiado que aún en casos con similares síntomas y signos clínicos, los tipos de microorganismos son muy variables (13).

Morfológicamente la microbiota endodóntica consiste en cocos, bacilos, filamentos y espirilos. El conocimiento de la estructura de la microbiología endodóntica, su capacidad de interacción, organización y distribución dentro del sistema de conductos se vuelve fundamental al momento de seleccionar una estrategia terapéutica para la erradicación de la infección (10).

Las bacterias pueden encontrarse organizadas de forma planctónica u organizadas en sistemas estructurales, complejos y biológicos, que se adhieren a las superficies radiculares, denominados biofilms o biopelículas (5).

En sus estudios microbiológicos Antony Van Leeuwenhoek observó que en la placa microbiana dentaria las bacterias se agrupaban en forma de comunidades primitivas (20). Tronstad et al. estudiaron en el año 1990, la forma de organización de las mismas y su relación con las superficies dentarias. Demostraron la presencia de las mismas en relación al foramen apical y sus adyacentes lesiones perirradiculares. En el año 2002 Donlan y Consterton definen al biofilm por primera vez. Estos se componen por varias especies bacterianas (comunidad microbiana) inmersas en una sustancia polimérica extracelular biológicamente activa, segregada por los propios microorganismos (21). Se

generan sistemas biológicos primitivos con canales de agua que atraviesan la matriz, con el objetivo de nutrir a los microorganismos, comunicar a las células y eliminar residuos. Se adhieren tanto a superficies biológicas como sintéticas (5,20).

La biopelícula madura genera patrones modificados de crecimiento, con cooperación fisiológica y eficiencia metabólica, que proporcionan una forma de coordinación colectiva funcional (11). Consta de canales estructurales de agua por medio de los cuales se da un proceso de nutrición celular y la eliminación de los residuos de las colonias (20,21).

Los biofilms se presentan de formas variables, la más frecuente de encontrar es en forma de “champiñón”. El proceso por medio del cual se forma este tipo de estructuras tan complejas consta de cuatro fases. En una primera instancia de invasión se forma una película donde células que se presentaban de forma planctónica se adhieren a la superficie dentaria. A estas se comienzan a fijar bacterias colonizadoras capaces de adherirse. En una tercera etapa de formación comienzan a liberar factores mediadores para continuar con la fijación bacteriana. Las mismas secretan sustancias que dan lugar a una matriz celular de polisacáridos generando micro colonias. En la última etapa de crecimiento el biofilm va madurando y formando los sistemas intersticiales de agua, generando mecanismos de defensa complejos (21).



Fig. 3. Esquema del proceso de formación del biofilm (21).

Las especies microbianas que componen el biofilm y el tiempo de formación del mismo son los que determinan el grosor de esta capa tan compleja de combatir (13). La sustancia polimérica extracelular retarda la penetración de los antibióticos disminuyendo la acción de estos. Se genera un ambiente favorable para la supervivencia bacteriana, dificultando la entrada de agentes externos como medicaciones y agentes químicos antimicrobianos (20). Las bacterias organizadas en forma de biofilm generan adherencia a las paredes del conducto o de los túbulos dentinarios siendo más difíciles de remover durante las maniobras terapéuticas endodónticas (15). Para que la medicación antimicrobiana colocada intraconducto pueda actuar contra los agentes patógenos del biofilm es necesario que logre tener contacto con estos, lo cual se ve limitado por la posibilidad terapéutica de desorganizar mecánicamente la matriz intermicrobiana. Dentro del sistema de conductos quedan zonas "ciegas", donde es difícil acceder durante el tratamiento de endodoncia, que imposibilitan este objetivo (16).

Siqueira y Ricucci en 2010 estudiaron la relación entre la presencia de biofilm intrarradicular y extrarradicular con la periodontitis apical. Los resultados del estudio demostraron que existe una estrecha relación entre la presencia de biofilms bacterianos en los conductos dentinarios y la periodontitis apical, siendo ésta una enfermedad inducida por biofilm (19).

El conocimiento del comportamiento bacteriano es importante para seleccionar una estrategia terapéutica acertada. Las bacterias impactan sobre los tejidos del hospedero. Son los factores de virulencia microbianos los que los causan, por medio de diferentes mecanismos de patogenicidad. La patogenicidad es definida como la capacidad de un microorganismo de causar un daño. Las interacciones microbianas determinan el grado de virulencia de la comunidad microbiana (13).

Los factores de virulencia se clasifican en directos e indirectos. Los directos son propios de los microorganismos. Las enzimas, endotoxinas y productos metabólicos microbianos ocasionan daños de origen directo en los tejidos perirradiculares, mientras que los indirectos generan acciones de forma secundaria sobre los tejidos (14). Los factores de patogenicidad también pueden clasificarse en estructurales (forman parte del propio microorganismo) o secretados (10).

Estructuralmente, las bacterias presentan elementos que pueden ser obligados (presentes en todos los casos) o facultativos (pueden no existir). Dentro de los primeros, se localiza la membrana citoplasmática, la pared celular y el glicocálix, en este orden de adentro hacia afuera. En el interior celular se encuentra el citoplasma, un gel con alto contenido hídrico que contiene los ribosomas y el ADN cromosómico. La membrana

citoplasmática es un elemento obligado. Se compone por una bicapa lipídica (fosfolípidos) y por proteínas. Regula el paso de sustancias al interior celular. En bacterias Gram positivas se ancla a la misma el ácido lipoteicoico. La estructura que protege externamente a las bacterias es la pared celular. Es un elemento obligado es decir que se presenta en todas las bacterias, excepto en micoplasmas. Se compone de polisacáridos, proteínas y lípidos. Difiere estructuralmente en bacterias Gram positivas a negativas. En las primeras, se distingue el peptidoglicano como componente de la pared celular. En bacterias Gram negativas éste es más fino (22).

La cápsula es una estructura facultativa, que se muestra como una cubierta bien definida cuya principal función es la de la protección para las bacterias. Evita la opsonización en la fagocitosis celular y protege a la célula de la penetración de diferentes sustancias al interior celular. Los lipopolisacáridos o endotoxinas son un componente que se presenta principalmente en bacterias Gram negativas a nivel de la membrana externa. Inducen efectos inflamatorios en el hospedero (10). Dentro de los elementos estructurales facultativos podemos encontrar fimbrias y flagelos. Los flagelos son estructuras finas y largas que se encargan de la movilidad celular, permitiendo a las bacterias su penetración en los tejidos. Las fimbrias son estructuras que se encuentran sobre la superficie de la bacteria, y permiten la agregación y coagregación de los microorganismos entre sí o a superficies (22).

La incapacidad de la terapéutica endodóntica convencional de combatir eficientemente la microbiota en todos los casos, ha llevado al desarrollo de estrategias como la terapia fotodinámica antimicrobiana (PDTa). El mecanismo de acción de la PDTa se da por una serie de reacciones químicobiológicas que impactan sobre las diferentes estructuras microbianas, modificando los componentes celulares para luego generar la muerte de estos microorganismos (7) .

4.2 Láser

4.2.1 Generalidades

Desde la antigüedad la luz ha sido utilizada y estudiada como medio terapéutico medicinal para tratar pacientes con tuberculosis, psoriasis, lupus, tratamiento de bebés recién nacidos con ictericia, entre otras enfermedades por sus efectos sobre los tejidos biológicos (6,8). En el año 1960, el físico norteamericano Theodore Harold Maiman diseña el primer ejemplar de Maser (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) a base de rubí, en la universidad de Malibú, generando un haz de luz visible de color rojo (23). Desarrolla sus investigaciones a partir de la teoría cuántica, principalmente planteada por el alemán Max Planck y luego reformada por Albert Einstein. El 14 de diciembre de 1900, Planck propone la agrupación de la luz en paquetes o partículas, denominándolos fotones o cuantos. Basándose en este concepto, en el año 1916-17, Einstein publica un escrito al cual denominó “Sobre la teoría cuántica de la radiación” y planteó la teoría de la emisión estimulada de la radiación, que más adelante sería el principio fundamental del funcionamiento del láser (24). Poco después de este primer diseño varios investigadores encontraron interesante la visión del máser de Maiman, y buscaron realizar modificaciones con el fin de que este pueda ser utilizado en el cuerpo humano generando cambios en tejidos y células. A partir de esto fueron surgiendo diferentes tipos de láser, los cuales han sido nombrados haciendo referencia a su medio activo (6). En el año 1961, en el Hospital Presbiteriano de Nueva York, se utiliza por primera vez un láser durante un procedimiento quirúrgico de remoción de un tumor con el logro de exitosos resultados (24). En el año 1990 los hermanos Mayer diseñan el primer láser específico para odontología a base de Nd:Yag (25).

4.2.2 Física y características de la luz láser

Para un correcto entendimiento de los procesos que rigen el funcionamiento de la tecnología láser, es fundamental comprender algunos conceptos físicos. La luz es un tipo de radiación electromagnética, que se propaga en el espacio transportando energía en forma de onda, viajando a una velocidad constante (26). La unidad elemental de la energía se denomina fotón, son pequeños paquetes que se propagan en la misma onda (27). Por lo tanto, la luz tiene un carácter dual (onda – partícula) (25) Como concepto físico una onda es una perturbación oscilatoria periódica que se propaga en un medio sólido, líquido o gaseoso. Todas las ondas tienen ciertas características en común. Sus

dos principales son: la amplitud de onda y la longitud de onda (8). Esquemáticamente las ondas se pueden representar como la figura 4. La altura vertical máxima de la onda, desde el eje cero, se denomina cresta y determina la **amplitud de onda**. Esta se representa con la letra griega gama (γ). Cuanta mayor amplitud de onda, mayor cantidad de energía (24). Contrario a la cresta, se encuentra el valle que es el punto más bajo de la onda con respecto al mismo eje (8).

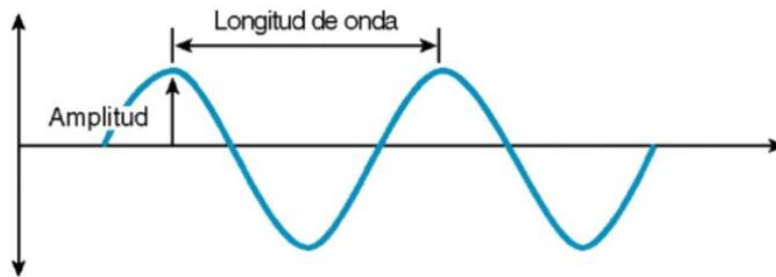


Fig. 4. Amplitud y longitud de la onda electromagnética (6).

La **longitud de onda** es la distancia sucesiva entre dos crestas del espectro electromagnético. Es decir, la distancia que recorre una onda al realizar una oscilación completa. Se representa con la letra griega lambda (λ) y se mide en metros (m). Esta medida es relevante para la forma de aplicación de la luz láser en los diferentes tejidos (8). La unidad que utilizan los láseres es mucho más pequeña, y se denomina nanómetro. Esto equivale a una millonésima de metro (10^{-9}) (6).

La **frecuencia (ν)** de una onda está dada por la cantidad de oscilaciones que pasan por un punto en una determinada unidad temporal y su unidad es el Hertz (Hz) (25). Un Hertzio equivale a una oscilación de onda por segundo (6).

La magnitud **Energía (E)** es la capacidad que tiene la materia de producir trabajo en forma de movimiento, luz, calor, etc. Se expresa en Joules (J). La **potencia (P)** es la cantidad de energía depositada por unidad de tiempo. Su unidad de medida es el watt (W) (24). Para obtener la cantidad de energía se debe multiplicar la potencia de salida del láser en miliwatts (mW) por el tiempo de exposición en segundos (6).

El espectro electromagnético es el rango de todas las ondas electromagnéticas. Se pueden encontrar ondas de mayor longitud de onda como ser las ondas de radio (con longitud de onda de miles de metros) a ondas con longitud de onda más comprimida como los rayos X o gama (con longitudes de onda de 10^{-12} metros) tal como se observa en la figura 6 (6). Las ondas que son visibles al ojo humano, por medio de las células

sensoriales de la retina son las que se encuentran dentro del rango de 400 a 700 nm, y se descomponen en diferentes colores desde el violeta al rojo. La luz blanca se compone de una mezcla de todos estos colores, es policromática y el ojo humano la percibe como blanca sin que ninguno de estos predomine (25). Los láseres disponibles actualmente, presentan longitudes de onda que varían desde 400 nm hasta 10.600 nm lo que los coloca en la porción no ionizante (no mutagénica del ADN) denominada también radiación térmica que puede ser visible o invisible dentro del espectro electromagnético (6). Dentro de los que emiten luz visible al ojo humano podemos encontrar: láseres de argón con longitud de onda azul o verde, de YAG con longitud de onda verde y láseres de baja potencia con longitud de onda roja (6). Los primeros, ya no son utilizados en odontología. Los láseres de diodo de baja potencia emiten luz visible tienen longitudes de onda que van de 635 nm a 675 nm y son frecuentemente utilizados en la práctica odontológica como láseres terapéuticos y en la aplicación de terapia fotodinámica. Dentro de la porción infrarroja existe la cercana, mediana y lejana. En la porción infrarroja cercana encontramos láseres que son comúnmente utilizados en endodoncia y periodoncia. Por ejemplo, láseres de alta potencia de diodo que van de 810 a 1064 nm y de neodimio (Nd: YAG y Nd: YAP) (28) y láseres de baja potencia que pueden ser utilizados en el espectro rojo o infrarrojo cercano (29). Los de diodo son utilizados para cirugías de tejidos blandos por su capacidad de corte y coagulación de las mucosas orales (24). Dentro de la banda de láseres infrarrojos medios se incluye el láser de erbio. Sus múltiples usos odontología tanto en tejidos duros como blandos están dados gracias a la afinidad del erbio por el agua. Por último, los que están comprendidos en el espectro de los láseres infrarrojos lejanos. Estos son los de CO₂ que son utilizados en el área de cirugía (28).

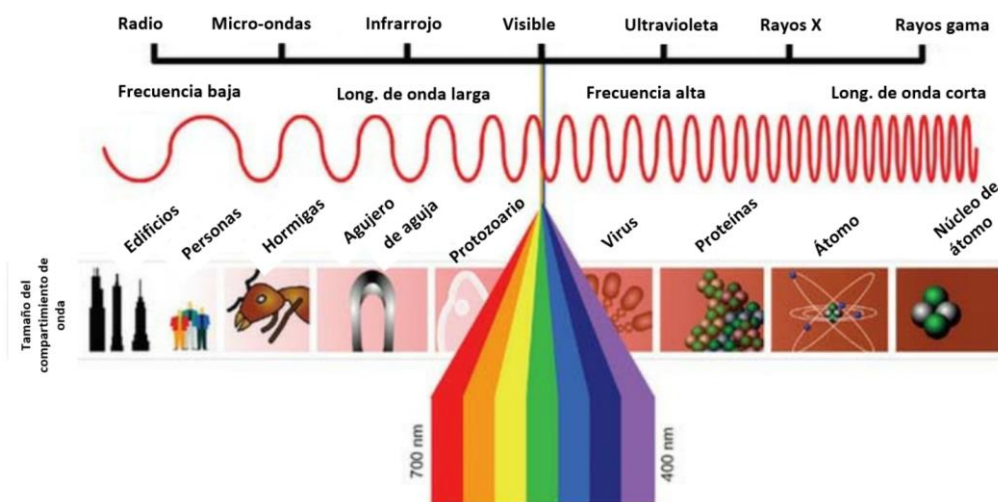


Fig. 5. Diferencias entre longitudes de onda de los tipos de radiación (25).

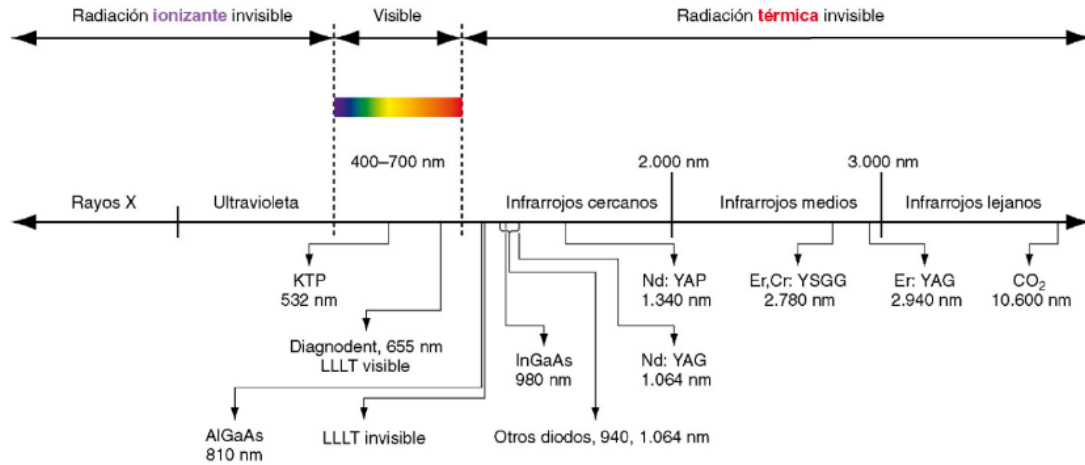


Fig. 6. Espectro electromagnético y longitudes de onda de los diferentes láseres (6).

Funcionamiento del láser

El láser en su definición es la amplificación de una luz a través de la emisión estimulada de la radiación. Este concepto fue desarrollado por Albert Einstein en 1917, basando su teoría en conocimientos descritos anteriormente por el físico alemán Max Planck y el danés Niels Bohr y es la base fundamental del funcionamiento del aparato Láser. El proceso de emisión espontánea puede ser inducido y forzado (6,27).

La teoría plantea que el cuanto o fotón es la unidad más pequeña de energía que un átomo es capaz de emitir. En condiciones especiales se puede estimular a un átomo a emitir un fotón (6). Cuando un átomo excitado por cierta fuente de energía colisiona con un fotón, este instantáneamente emite otro idéntico al primero produciéndose un proceso de amplificación para posteriormente regresar a un estado estable (23,27). Estos fotones van a producir el mismo efecto sobre otros, generando una cascada de emisión estimulada de radiación que se da de forma geométrica tal como se observa esquemáticamente en la figura 6. El fotón estimulado viaja en la misma dirección y velocidad que el estimulador, siendo sus frecuencias y longitudes de onda idénticas (26).

Esto explica dos de las características principales del láser, la coherencia y direccionalidad. El fotón estimulado sincroniza su onda con el estimulador de tal forma que las ondas de los dos fotones alinean sus crestas sumando las magnitudes aumentando la intensidad de la luz emitida. De esta forma se produce una luz organizada (25).

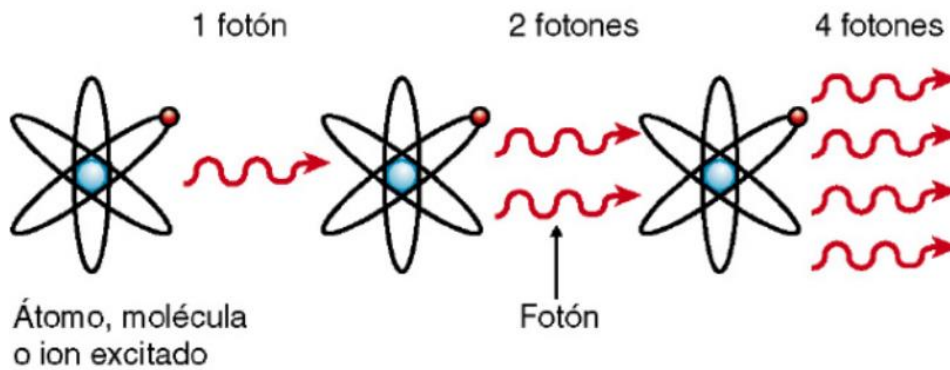


Fig. 7. Diagrama de la emisión estimulada de la radiación (6).

Luz láser

Ciertas propiedades son fundamentales para que una luz láser sea considerada como tal.

Monocromaticidad: La luz láser se compone de fotones del mismo color y con la misma longitud de onda en todo su recorrido. Esta característica es importante por la absorción selectiva por el tejido humano (27). La luz normal es la suma de varios colores del espectro visible (23). Si dirigimos un haz de luz láser hacia un prisma de vidrio, no se descompone en varios colores (25).

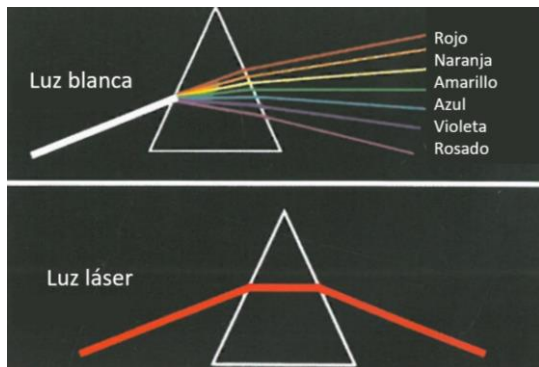


Fig. 8. Monocromaticidad de la luz láser en comparación con la luz blanca (24).

Direccionalidad: los fotones se propagan en una única dirección. No divergen entre ellos en su recorrido. Cuando encendemos una lámpara de luz normal, los fotones se dispersan por el ambiente en diferentes direcciones. Esta característica es la que nos brinda la posibilidad de dirigir un haz de luz hacia una zona de tejido específica pudiéndose propagar a grandes distancias sin divergir de forma importante (27).

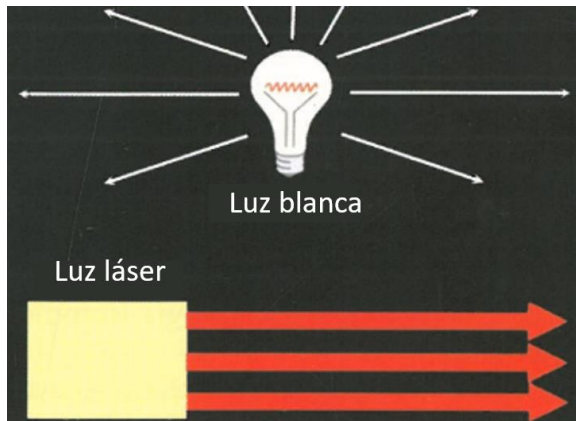


Fig. 9. Direccionalidad de la luz láser en comparación con la luz blanca (24).

Coherencia: Todos los fotones deben tener el mismo comportamiento en su recorrido con el fin de generar igual efecto terapéutico en los tejidos. Las partículas que componen la luz láser mantienen la misma velocidad, energía y distancia desde su emisión, tienen una relación de fase constante y por lo tanto coherencia espacial y temporal (6).



Fig. 10: Coherencia en las ondas emitidas por la luz láser (24).

4.2.3 Composición del equipo láser

La amplificación es un proceso que se establece dentro del aparato láser. El estudio de la composición del mismo es fundamental para comprender este concepto. El aparato láser cuenta con tres partes: el medio activo, un resonador óptico y un mecanismo de bombeo (23). El componente principal del láser es el medio activo, y es el que le da nombre al aparato. Determina su longitud de onda dado que las transiciones energéticas en el aparato láser dependen del tipo de medio activo utilizado (30). Este puede ser sólido, líquido o gaseoso, y está cargado moléculas formadas por átomos capaces de pasar a un estado mayor de excitación por medio de la amplificación estimulada de la luz (26). El medio activo más utilizado en la actualidad es el diodo, sin embargo, existen equipamientos que pueden ser a base de erbio, argón, CO₂, neodimio, etc. El argón y el CO₂ son los dos medios activos de estado gaseoso (23). El mecanismo de bombeo es el encargado de proveer la energía, que es impulsada dentro del medio activo. Es necesaria para que los átomos pasen a un estado de excitación mayor y así poder generar esta reacción, dándose una “inversión de la población” (30). A partir de esto es que se da la emisión estimulada de la luz. Este fenómeno se amplifica aún más con el resonador óptico o cavidad resonante compuesto por dos espejos contrapuestos, que se encuentran en los extremos de la cavidad óptica del láser colocados en forma paralela entre sí. Estos espejos o resonadores ayudan a amplificar el haz en desarrollo. La radiación generada es reflejada de forma que en su pasaje por el medio activo vuelve a darse el proceso de estimulación de fotones manteniendo la condición de inversión de la población (26). El primer espejo es totalmente reflejante y el que se encuentra en el extremo de salida refleja parcialmente logrando extraer parte del haz. En la figura 11 se puede observar esquemáticamente las partes que componen un aparato láser con los dos espejos en sus extremos. Finalmente, un sistema de enfriamiento completa sus componentes (23).

La cantidad de fotones que son emitidos hasta que el mecanismo entra en un estado de reposo por falta de realimentación está directamente relacionado con la potencia del láser y la energía suministrada (30).

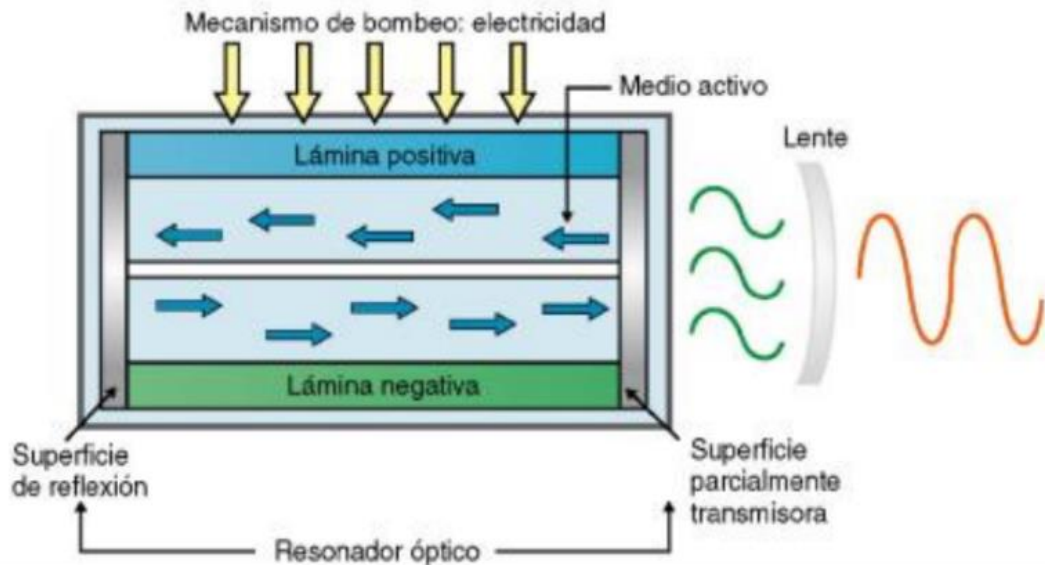


Fig. 11. Esquema de la composición del aparato láser (6).

4.2.4 Interacción del láser con los tejidos biológicos

En función a la longitud de onda del láser y las características ópticas del tejido en el cual se aplique la luz, esta puede producir diferentes fenómenos biológicos. Dentro de la cavidad bucal podemos encontrar una gran variedad de tejidos y células. La terapéutica láser debe ser individualizada según el caso a tratar. Algunos factores como el color de tez y su pigmentación, el contenido líquido del tejido, la edad del paciente, el nivel de inflamación de la zona, condicionan la cantidad de energía absorbida por los tejidos (23). Cuanto más translucido es un tejido, menor es la capacidad de absorción del mismo y por tanto menores son los efectos biológicos (31).

Existen cuatro tipos de interacción entre los tejidos y la luz láser. En primer lugar, parte de la luz se refleja y no tiene efecto sobre el tejido irradiado. Este fenómeno es el motivo por el cual utilizamos lentes de protección (tanto en el equipo de salud como en el paciente) al aplicar laserterapia, ya que puede generar daños en la retina ocular. El tipo de interacción deseada es la absorción completa de la radiación, provocando efectos biológicos sobre los tejidos (23) Parte de la energía absorbida sufrirá el fenómeno de dispersión, lo cual permite que la energía alcance un diámetro mayor que el sitio de aplicación del haz incidente (27). Otra situación que se da es la transmisión en la cual la energía láser es transmitida por los tejidos, pero no genera un efecto biológico sobre estos ya que no es absorbida (23). Otra situación que se da es la transmisión en la cual

la energía láser es transmitida por los tejidos, pero no genera un efecto biológico sobre estos ya que no es absorbida (23).

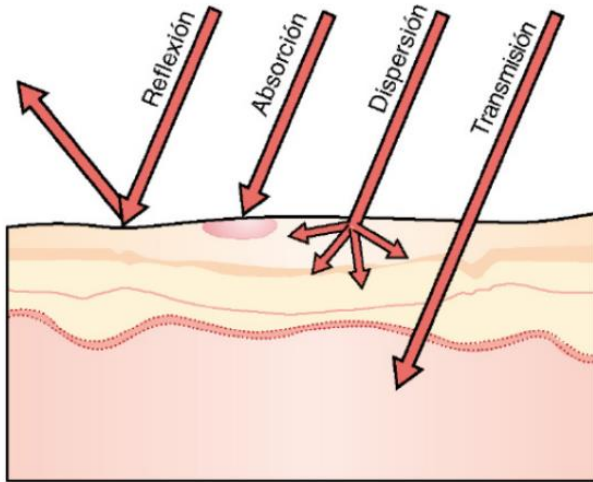


Fig. 12. Posibles interacciones entre el láser y los tejidos (6).

Los tejidos del medio bucal son complejos y heterogéneos histológicamente, por lo cual es imposible conocer las diversas reacciones de la luz láser con cada uno de estos (23). El tipo de tejido irradiado y sus propiedades ópticas es importante para la selección del tipo de terapéutica láser a utilizar. La absorción del láser se comporta de diferentes formas en los variables tejidos, según la composición de estos. Tanto los tejidos duros orales como los blandos están compuestos en mayor o menor medida por sustancias como la hemoglobina, melanina, agua, hidroxiapatita y proteínas colágenas (28). A estas sustancias se le denomina cromóforas y son las que van a determinar el tipo de láser a ser utilizado por su afinidad con el medio activo utilizado (6). Estos fotoreceptores se encuentran en mayor cantidad en los fluidos, por lo que en los tejidos inflamados y edematosos la absorción de la irradiación es mayor (23). Los láseres de diodo y de neodimio tienen alta afinidad por la hemoglobina y melanina, pero mínima por los tejidos duros dentarios (28). En todos los tejidos del cuerpo se puede encontrar agua. El láser con mayor afinidad por esta es el de erbio, seguido por el de CO₂. El cristal de apatita presenta mayor absorción en la categoría de láseres a base de CO₂ (6).

Absorción neta aproximada de diversos componentes tisulares

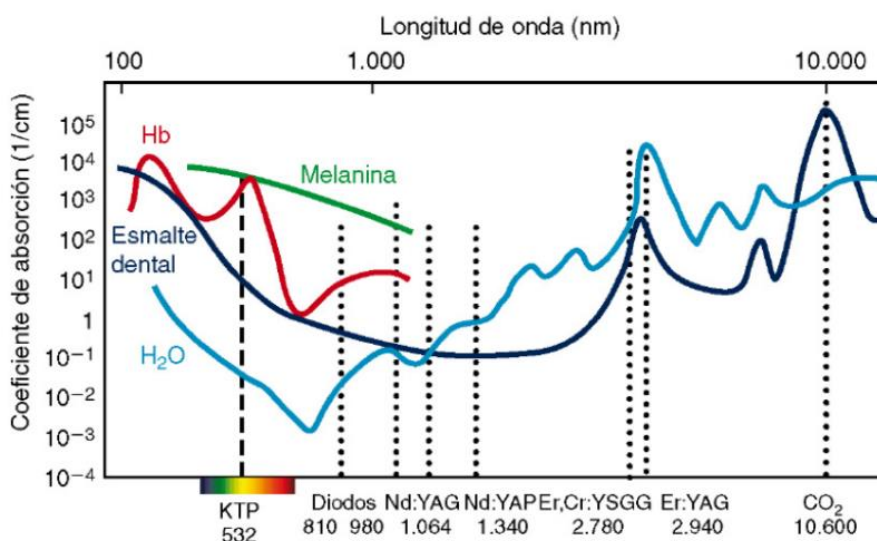


Fig.13. Curvas de absorción de los principales cromóforos orales (6).

Mediante la aplicación de láser terapéutico de baja intensidad, se busca lograr efectos de biomodulación, analgesia y de control de la inflamación (27).

_ BIOMODULACIÓN

Varias investigaciones realizadas in vitro demuestran la proliferación celular tras la aplicación del láser de baja potencia. Algunas de las células estudiadas fueron los fibroblastos, osteocitos, células cardíacas, queratinocitos, entre otras. Tras la aplicación de láser de baja intensidad, se genera un cambio a nivel celular, específicamente sobre las mitocondrias (32). La función principal de estos organelos celulares es generar la molécula de trifosfato de adenosina (ATP). Esta constituye la fuente principal de energía utilizable por las células para realizar su función. La radiación con luz láser de baja potencia facilita el paso de ADP a ATP tras la activación de la cadena respiratoria mitocondrial (24). El ATP es el producto final del ciclo de Krebs. La enzima citocromo c-oxidasa (fundamental en la producción de ATP), en su función normal es inhibida por el óxido nítrico. Tras la irradiación con luz láser la unión entre ambos es disociada, permitiendo un aumento de ATP a nivel celular. Como consecuencia, habrá una mayor cantidad de energía para la mitosis celular, lo que explica el efecto de bioestimulación del láser terapéutico. Esta serie de cambios a nivel celular generan consecuentemente cambios macroscópicos, observándose tras el aumento de proliferación celular, un mayor éxito en los procesos de reparación de los tejidos, promoviendo la cicatrización

(32). La radiación láser tiene una acción indirecta sobre la microvascularización, en el esfínter precapilar, produciendo su apertura. Esto genera una vasodilatación y mayor entrada de sangre a los capilares. Al haber un aumento de sangre permite que al tejido lesionado lleguen más células de defensa y oxígeno favoreciendo la reparación de los mismos (33).

CONTROL DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación es la reacción de los tejidos ante una lesión o un elemento nocivo desencadenando respuestas vasculares, humorales, celulares y neurológicas. Este proceso desencadena la reparación de los tejidos afectados y puede causar dolor (33). El láser terapéutico cumple un papel fundamental en el control de la inflamación, se lleva a cabo mediante la interferencia local. En tejidos edematizados e inflamados, donde abundan los fluidos, la energía de la luz láser será absorbida en mayor cantidad, estimulando los procesos de reparación de heridas y control de la inflamación (6). Se ve favorecido el potencial defensivo de los tejidos, ya que aumenta la producción de células de defensa (lisosima, interferón, etc). A su vez, habrá un aumento de la circulación linfática lo cual tiene como consecuencia un mayor control de la inflamación (24).

ANALGESIA

El efecto analgésico es propio del láser terapéutico de baja potencia, sin embargo, el láser de alta potencia al ser aplicado superficialmente en un área de irradiación mayor puede generar la misma acción. A partir de un proceso de inflamación se dan reacciones químicas que inducen al dolor. El control de la inflamación por medio de la terapéutica láser produce como efecto secundario la analgesia de los tejidos (27). La función de la laserterapia sobre el control del dolor está dada por dos mecanismos, la regulación de la concentración de sustancias algógenas y la acción directa sobre las fibras nerviosas sensitivas, causando la normalización del potencial de membrana para lograr efectos analgésicos (6). El láser de baja potencia Interfiere en la actividad de la ciclooxigenasa, la enzima clave en la síntesis de prostaglandinas, por medio de la oxidación del ácido araquidónico. Las prostaglandinas tienen un papel importante en el dolor e inflamación. Son capaces de sensibilizar a los receptores del dolor, generando hiperalgesia del tejido dañado. La modulación intrínseca del dolor está dada por la liberación de sustancias endógenas que son capaces de producir analgesia. La terapéutica por medio de irradiación con láser produce un efecto analgésico que se ve acompañado por un aumento en la secreción de betaendorfinas. El láser terapéutico actúa sobre las fibras nerviosas generando un equilibrio en su potencial de membrana, no permitiendo su despolarización y por lo tanto la conducción del estímulo doloroso local. La aplicación

de laserterapia reduce la utilización de medicación analgésica lo cual resulta útil para el tratamiento de pacientes alérgicos (24). El efecto analgésico también se puede lograr mediante la aplicación de láser de alta potencia de forma desenfocada (6).

4.2.5 Clasificaciones de los equipos láser

Los equipamientos láser pueden clasificarse según su potencia, longitud de onda y su peligrosidad.

_Clasificación según potencia de emisión:

Según la potencia utilizada, se dividen en láser de baja potencia o terapéutico (Low Level Laser Therapy, LLLT) y láser de alta potencia o quirúrgico (25). El láser terapéutico (figura 14A) no es invasivo. Se consideran los equipos que presentan potencias hasta 300-500 mW. La variación de temperatura debe estar dentro del orden de 1°C (33). Cumplen con fenómenos de foto activación celular y tisular. La base de esta terapéutica se da por la interacción de las ondas electromagnéticas con las células, a diferencia de los láseres de alta potencia que obedecen a efectos térmicos. Ejercen efectos sobre los tejidos de biomodulación, analgesia y control de la inflamación (24,29). En su espectro infrarrojo presentan longitudes de onda de 780 a 930 nm, y de 630 a 680 nm en el espectro rojo (25).

El láser de alta potencia o quirúrgico (figura 14B), produce efectos de corte, coagulación, vaporización, ablación y esterilización de los tejidos. Utilizan potencias mayores a 500 mW. Generalmente se encuentran en el espectro infrarrojo con longitudes de onda de entre 700 y 1064 nm. Son utilizados en odontología para cirugía y eliminación de tejido dentario con lesiones cariosas como sustituto del bisturí o del instrumental rotatorio (33).

La base del funcionamiento de los láseres de alta potencia se da en la conversión de energía lumínica en térmica, lo que determina las propiedades del instrumento y su función. Los variables usos del láser de alta potencia dependen de la temperatura alcanzada. Cumple con fenómenos de fotodestrucción celular. Al utilizarlo entre 60 y 70°C se observa coagulación y desnaturalización de proteínas. En 100°C se produce la ablación de los tejidos. Simultáneamente a estas propiedades se pueden observar efectos analgésicos, antiinflamatorios, cicatrizantes y hemostáticos generando un campo quirúrgico limpio, y por lo tanto tratamientos más sencillos y menores complicaciones postoperatorias (25,29).

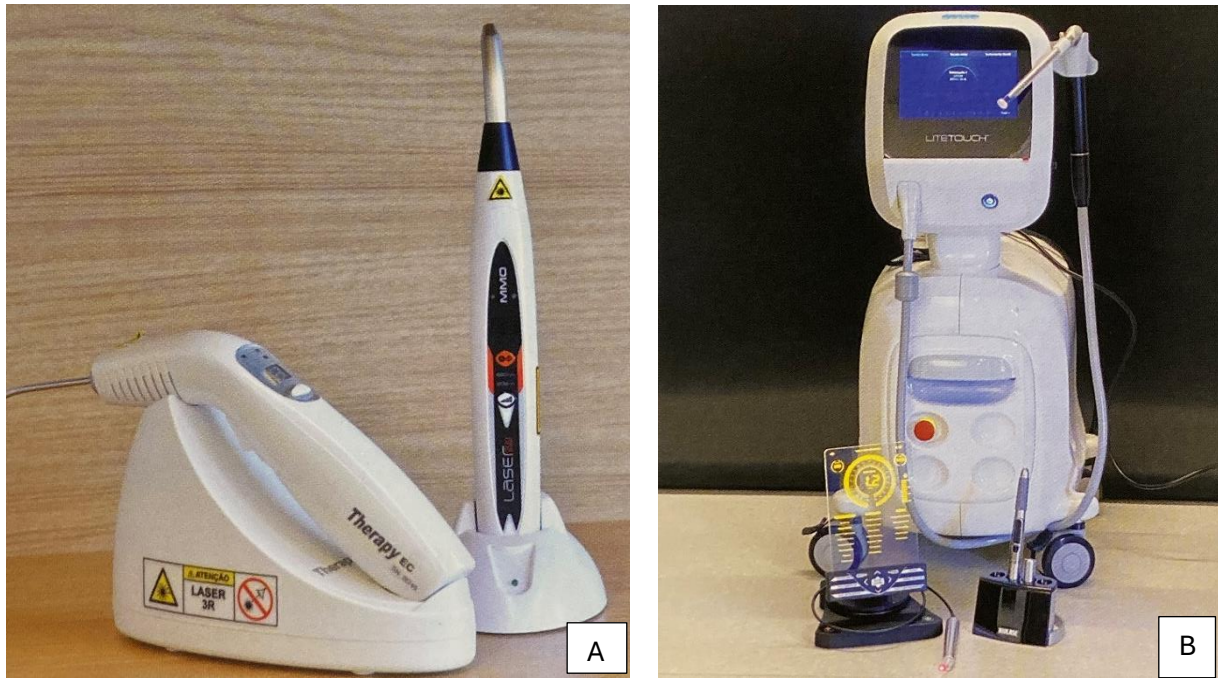


Fig. 14. A) Láser de diodo de baja potencia B) Láseres de alta potencia de diodo y Er:YAG (29).

_Clasificación según longitud de onda

Contamos con diferentes tipos de láser con longitudes de onda variadas y por lo tanto con diferentes efectos terapéuticos. Pueden ser emitidos en la región del espectro electromagnético visible e invisible no ionizante. La diferencia más significativa entre los equipos con longitud de onda rojo e infrarrojo se encuentra en la profundidad de penetración. El láser infrarrojo actúa en la profundidad de los tejidos, mientras el rojo estimula las células más superficiales (6).

_ Clasificación según peligrosidad

Esta clasificación fue realizada en base al daño que puede ser generado por el tipo de luz emitida. En el mercado podemos encontrar una amplia gama de aparatos de luz láser. El grado de peligrosidad del instrumento está determinado por su longitud de onda, la potencia o energía utilizada y el período de tiempo en que el tejido es expuesto a este tipo de irradiación. La clase es el indicador de grado de peligrosidad (34).

CLASE	LONG. DE ONDA (nm)	PELIGROS ASOCIADOS
1	180-302,5 (UV)	Productos de uso seguro (CD, DVD, microscopios, etc.)
1M	302,5-400 (IR)	Seguro cuando no es mirado a través de equipamientos ópticos de ampliación (binóculos, telescopios) Ojos: riesgo bajo, Piel: ninguno
2	400-700 (visible)	Seguro cuando no es mirado fijamente, reflejo palpebral (lectores de códigos de barras, punteros) Ojos: riesgo bajo, Piel: ninguno
2M	400-700 (visible)	Seguro cuando no es mirado a través de equipamientos ópticos de ampliación. Ojos: riesgo bajo, Piel: ninguno
3R	400nm-1mm	Radiación directa peligrosa para los ojos (laser de baja potencia) Ojos: riesgo bajo, Piel: riesgo bajo
3B	400nm-1mm	Radiación directa o reflejada peligrosa para los ojos. Piel: riesgo bajo
4	Emisión superior a límites de 3B	Radiación directa o reflejada peligrosa para los ojos y para la piel. Peligro de incendio

Fig. 15. Cuadro de clasificación del láser según su peligrosidad (35).

Se dividen de clase 1 a 4, siendo la 1 la menos peligrosa y la 4 la más peligrosa tal como se clasifican en el cuadro de la figura 15.

Al utilizar la tecnología láser, de alta o baja potencia, tanto el operador y su equipo técnico como el paciente deben utilizar gafas de protección ya que el daño que las ondas pueden generar sobre la retina del ojo pueden darse de forma irreversible, pudiendo causar pérdida de visión (35). Los lentes de protección deben ser adecuados al instrumento a utilizar. El proveedor debe ajustar la densidad óptica del mismo, a la longitud de onda del aparato y realizar la correspondiente identificación sobre el lente facilitando su elección (6). Las lesiones no solo se dan a nivel ocular, sino que pueden afectar también la piel generando quemaduras por sobreexposiciones. Todos los aparatos que irradian luz láser cuentan con un pictograma para ser diferenciados y deben estar etiquetados para advertir al usuario la clase de láser y su peligrosidad. El mismo se puede observar en la figura 16. Varios equipos presentan una barrera protectora que viene incluido en los láseres de alta potencia, con el fin de no pisar el pedal de forma accidental previniendo accidentes de alta gravedad (35). Algunos láseres de alta potencia requieren del uso de mascarillas para filtrar las partículas generadas o la evacuación de estas por medio de extractores (6).



Fig. 16. Pictograma de advertencia y las etiquetas correspondientes al tipo de láser (34).

4.2.6 Aplicaciones láser en Endodoncia

En el año 1971 fue utilizado el láser por primera vez en el campo de la Endodoncia, por Weichman, con el fin de mejorar los resultados obtenidos en el cierre apical de una pieza dentaria. Hoy en día el láser ha cobrado gran importancia en la odontología y ha resultado de gran utilidad en la terapéutica endodóntica, desde su uso para diagnosticar hasta la aplicación en terapias más invasivas como ser la cirugía paraendodóntica (36).

Un método diagnóstico de la vitalidad pulpar que emplea tecnología láser para su funcionamiento es el láser doppler. Es una técnica no invasiva que permite medir la perfusión sanguínea de los tejidos por medio del registro del flujo sanguíneo microvascular y la velocidad de movimiento de los eritrocitos (37,38).

En tratamientos de endodoncia conservadores, el láser puede ser utilizado en casos de caries profundas (tratamiento pulpar indirecto) (figura 17), de exposiciones pulpares (tratamiento pulpar directo) (figura 18), pulpotomías y técnicas de apexificación. Cuando aún no existe exposición pulpar, el láser de alta potencia es beneficioso para el tratamiento ya que genera un efecto de cristalización con del componente inorgánico de la dentina, denominado "melting". Se da sobre los túbulos dentinarios expuestos, lo cual disminuye la sensibilidad dentaria posterior al tratamiento. Además, por sus efectos antimicrobianos contribuye a una técnica aséptica durante el tratamiento (28).



Fig. 17. Tratamiento por medio de láser de Er:YAG y posterior protección pulpar con hidróxido de calcio (28).

Como terapia coadyuvante al tratamiento pulpar directo se puede utilizar tanto láser de alta potencia como láser de baja potencia terapéutico. Al aplicar láser de alta potencia se buscan resultados de hemostasia y coagulación de la exposición pulpar y de descontaminación de la cavidad generando mejoras en los resultados del tratamiento promoviendo la reparación (36). Al generarse un campo seco y limpio el material de base utilizado será mas fácil de aplicar y tendrá mejores propiedades mecánicas y biológicas. Se crea una capa de necrosis superficial que evita el contacto directo del tejido pulpar sano con el material de recubrimiento (28).

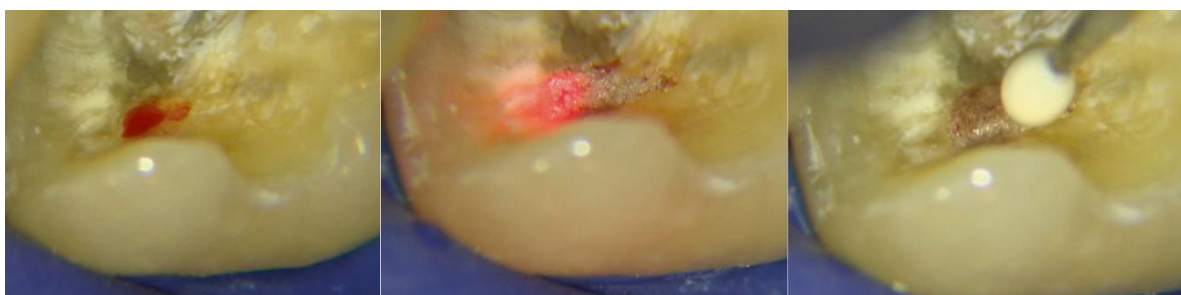


Fig. 18. Exposición pulpar tras eliminación de caries, aplicación de láser Er:YAG para promover la coagulación, protección pulpar con hidróxido de calcio (28).

En busca de promover la bioestimulación de las células de la pulpa dentaria se utiliza el láser terapéutico. Estimula la proliferación celular como ser fibroblastos o células epiteliales y ayuda a la reparación mediante la formación de un puente dentinario de dentina reparadora por un aumento de la actividad mitótica de los odontoblastos. Promueve el proceso de cicatrización controlando la inflamación pulpar y promoviendo la analgesia de la zona (24,39). Con el mismo criterio la tecnología láser cobra relevancia en casos de traumatismos, con o sin exposición pulpar. Acelera los procesos de regeneración de los tejidos y promueve el control de la inflamación y del dolor. Esto es muy relevante ya que la mayoría de los casos se dan en pacientes pediátricos, donde se ve una disminución de la función del sistema estomatognático (figura 19). Se puede aplicar también en piel y mucosas lesionadas. En tratamientos de pulpotomías, la irradiación por medio de laser terapéutico genera efectos de bioestimulación celular a nivel pulpar (25). Cuando el láser de alta potencia se utiliza para realizar el corte pulpar, se ve favorecida la obtención de un campo limpio por los efectos de coagulación, hemostasia y antimicrobianos (24,36).

En hipersensibilidad dentaria, la aplicación de la terapéutica láser puede ser realizada de dos formas. La irradiación por medio de láser de alta potencia promueve la formación de dentina reparativa que genera la obliteración de los túbulos dentinarios y reducción

de la permeabilidad (figura 20) (40). El láser terapéutico promueve la analgesia y control de la inflamación. Actúa directamente sobre la fibra nerviosa, despolarizándola para cortar la transmisión del impulso nervioso (figura 21) (29). Además, conduce a la bioestimulación dentinaria para que se dé la formación de dentina secundaria (24).



Fig. 19. Tratamiento con láser de baja potencia en piezas temporarias posterior a traumatismo dentario (6).

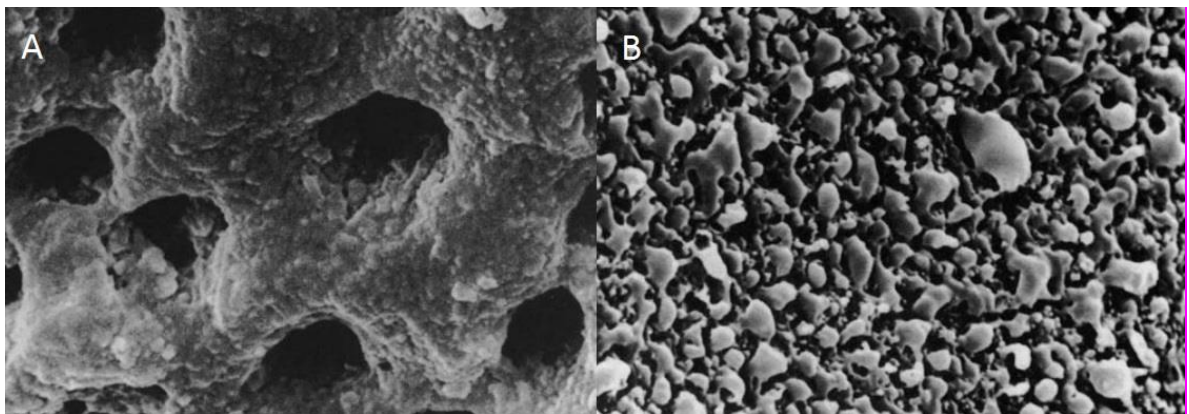


Fig. 20. La imagen A muestra los túbulos dentinarios sin barrillo dentinario no irradiados por luz láser. En la imagen B se puede observar el efecto “melting” luego de la aplicación de luz láser. Ambas imágenes tienen x5000 de magnificación (40).



Fig. 21. Aplicación de laser de baja potencia sobre lesión cervical (24).

Otra aplicación del láser en endodoncia esta dado en las cirugías paraendodónticas. La cirugía apical es un método quirúrgico realizado por vía transmaxilar. Su fin es la eliminación de la patología radicular mediante la exéresis y amputación del fragmento apical infectado (6,38). El corte a nivel apical puede ser realizado mediante fresas, puntas de ultrasonido o láser de alta potencia. El tratamiento de apicectomía mediante laserterapia presenta varios beneficios: mejora en la hemostasis generando un campo operatorio limpio con mayor visibilidad por el operador, descontaminación de la zona, potencial reducción de la permeabilidad dentinaria, control analgésico resultando un mejor posoperatorio y reducción de la contaminación proveniente del aire y agua de la turbina (41). El tratamiento por medio del láser de baja potencia puede ser utilizado de dos maneras y de forma combinada: realizando la aplicación de una sustancia fotosensibilizante en la zona con el fin de reducir la carga microbiana por medio de la aplicación de PDTa (terapia fotodinámica antimicrobiana) o con la aplicación de LLLT con efectos terapéuticos (42).

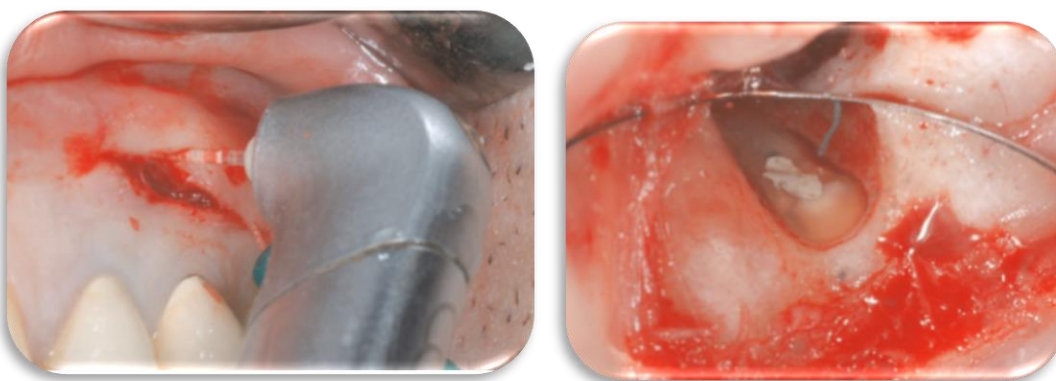


Fig. 22. Cirugía paraendodóntica realizada por medio de láser de alta potencia o quirúrgico (41).

En búsqueda del control de la infección en endodoncia se han desarrollado diferentes tecnologías que implementan al láser como mecanismo de acción. Existen cuatro terapéuticas diferentes por medio de los cuales se utiliza el láser con el fin de disminuir la carga microbiana del sistema de conductos radiculares.

- Terapia fotodinámica antimicrobiana
- Irradiando directamente las paredes dentinarias con láser de alta potencia
- Indirectamente activando la solución irrigante mediante laser de alta potencia (LAI)
- Photon-induced photoacoustic streaming (PIPS) (43).

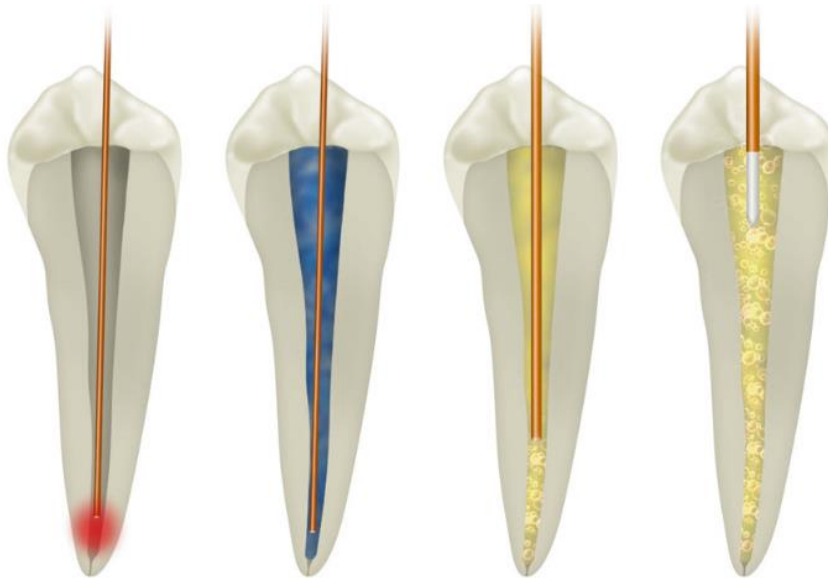


Fig. 23. Ubicación de la fibra dentro del conducto radicular en las técnicas de control de infección por medio de laserterapia. De izquierda a derecha: aplicación de láser de alta potencia convencional, terapia fotodinámica antimicrobiana, LAI y PIPS (43).

Durante la activación del irrigante por medio de láser de alta potencia (LAI) se genera un aumento de temperatura del mismo generando su vaporización. El láser más utilizado en esta terapéutica es el de erbio (Er: YAG) por su alta afinidad con el agua. Se da la formación de burbujas de vapor, lo que se denomina cavitación. Las mismas se expanden y luego implosionan permitiendo que el irrigante penetre en la mayor superficie posible del sistema de conductos radiculares. Esta energía que se genera sobre las paredes dentinarias genera la destrucción de microorganismos por afectación de la pared microbiana. Utilizan una fibra óptica que se inserta en el conducto. Existen controversias sobre la medida a la cual se coloca la fibra en el interior del conducto, yendo de 5 mm a 1 mm del ápice (44). PIPS es la sigla correspondiente a photon-induced photoacoustic streaming. Es utilizado para la activación de irrigantes químicos en la terapéutica endodóntica. También se utiliza láser de erbio (Er:YAG) como método de activación del irrigante, pero tiene algunas diferencias con respecto a la estrategia anterior. En este caso la fibra óptica solamente es ingresada en el tercio coronario del conducto radicular y se utilizan pulsos de energía más bajos. La forma en que se da la activación de la solución irrigante y la reacción que se genera ante esta activación es igual a la que se da mediante LAI. En la figura 25 se pueden observar las mismas sobre un modelo didáctico (44,45).

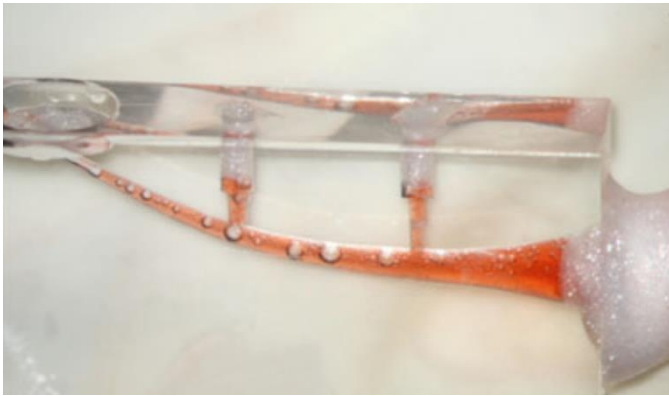


Fig. 24. Modelo simulador de conductos donde se realizó PIPS y se observan las burbujas de vapor (45).

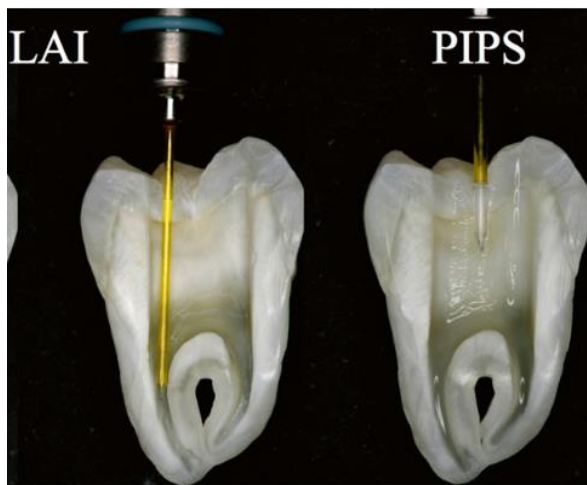


Fig. 25. Fibra dentro del conducto para protocolo de LAI y fibra en cámara pulpar para protocolo de PIPS (43).

Por medio de láseres de alta potencia también se puede disminuir la carga microbiana de los conductos radiculares. Se genera un aumento de la temperatura intraconducto generando efectos fototérmicos en las paredes dentinarias, lo cual provoca la eliminación de los microorganismos y del barrillo dentinario. Para este tipo de terapéutica se utiliza una fibra dentro del conducto radicular con el fin de generar un efecto de tridimensionalidad en penetración de la luz al conducto. Mediante esta estrategia de desinfección radicular las bacterias que se lizan con mayor facilidad (en menor tiempo y con menor dosis de energía) son las Gram negativas. Se han observado limitantes en este tipo de tratamiento. El efecto térmico debe ser controlado para evitar daños sobre las paredes dentinarias y los tejidos perirradiculares. Se pueden generar

alteraciones morfológicas en la dentina superficial del conducto radicular generando daños irreversibles (43).

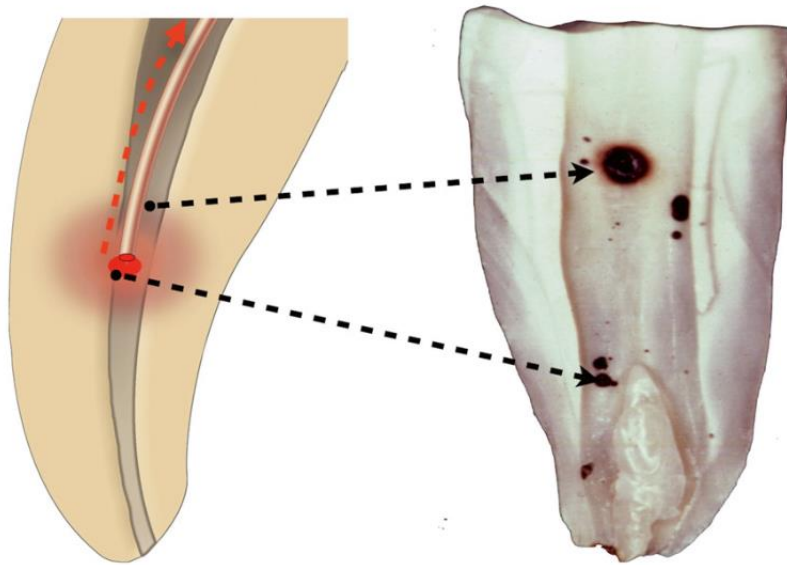


Fig. 26. Efectos térmicos (burned points) sobre las paredes dentinarias tras irradiación con luz láser de alta potencia (43).



Fig. 27. Pared del conducto irradiado mediante láser de Nd:YAG, muestra cracks dentinarios y efecto "melting" sobre los túbulos dentinarios (43).

Se debe tener en cuenta al utilizar láser de alta potencia de esta forma que el mismo puede generar alteraciones a nivel de los tejidos perirradiculares por su emisión directa cerca del foramen apical. Además, es fundamental tener en cuenta que puede lesionar el nervio mentoniano o alveolar inferior en piezas con proximidad a estas estructuras anatómicas (24).

4.3 Terapia Fotodinámica antimicrobiana

4.3.1 Mecanismo de acción

El control de la infección es uno de los mayores desafíos de la terapéutica endodóntica. Con el pasar del tiempo, la administración de antibioterapia se ha vuelto cada vez más ineficiente ya que los microorganismos generan mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Uno de los motivos es el uso inapropiado de los mismos y la sobre indicación por parte del personal de salud. Esto ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías en búsqueda de tratamientos más predecibles para el control de la microbiota endodóntica (46).

La terapia fotodinámica antimicrobiana o antimicrobial Photodynamic Therapy (PDTa) es una estrategia por medio de la cual se busca la inactivación fotodinámica de ciertas células mediante la aplicación exógena de una sustancia fotosensibilizante (47,48).

En el año 1898 en el Instituto Farmacológico de Munich, el estudiante Oscar Raab, bajo la supervisión de su profesor Hermann Von Tappeiner, descubrieron el fenómeno denominado “terapia fotodinámica”. En la investigación se tiñeron células con sustancias fotosensibilizantes, y por medio de la luz solar, con un microscopio se pudo observar la muerte celular de las mismas. Tappeiner menciona en artículos posteriores a la fecha la posible aplicación de esta terapéutica en la medicina. A partir de esto, el mecanismo de acción de la terapia fotodinámica tomó interés en el área, siendo estudiado por varios autores (49). En el año 1970 se utilizó por primera vez para el tratamiento de neoplasias y tomó especial atención en el año 1986 cuando Thomas Dougherty presenta sus estudios e investigaciones sobre la utilización de esta terapia en tumores malignos. En el mismo año funda la International Photodynamic Association (47). En el campo de la medicina se ha estudiado en abordaje de cáncer, de degeneración macular asociada a la edad, queratosis actínica y acné vulgar (1). Ha sido utilizada para el tratamiento antineoplásico de lesiones malignas y premalignas como leucoplasias o carcinoma de células escamosas (50).

Se clasifica a la terapia fotodinámica en dos tipos, la antineoplásica (de aplicación sistémica) y la antimicrobiana (de aplicación tópica). En la actualidad la PDTa es utilizada frecuentemente en la práctica diaria odontológica, medicinal (como ser en oftalmología y dermatología) y en veterinaria (43).

En su aplicación antimicrobiana, se compone de tres factores intervinientes fundamentales: una sustancia fotosensible, una fuente de luz y el oxígeno del medio. Actualmente la PDTa continúa siendo estudiada con el fin de mejorar sus propiedades para una combinación óptima de cantidad, tipo y concentración de sustancia

fotosensibilizante, fuente de luz y cantidad de energía aplicada, y parámetros de tratamiento en su gran variedad de casos clínicos. La PDTa representa un tratamiento muy prometedor en las diferentes áreas de la odontología donde tratamos infecciones. Ha sido estudiada en situaciones de lesiones cariosas, herpes simple, periimplantitis, periodontitis, pericoronaritis, queilitis angular e infecciones de tipo endodónticas (43).



Fig. 28. PDTa aplicado en lesión cariosa a nivel cervical (8).

La desinfección de los conductos radiculares y la eliminación de microorganismos para inducir a la reparación periapical son unos de los objetivos principales en la terapéutica endodóntica. Dos grandes desafíos para lograrlos implican la compleja anatomía del sistema de conductos radiculares y la agregación bacteriana en forma de biofilms. La PDTa ha sido propuesta como un método coadyuvante al tratamiento convencional para la obtención de resultados más predecibles (51).

Múltiples beneficios han sido descriptos en la literatura de la terapia fotodinámica antimicrobiana. A diferencia de los antibióticos este tratamiento no produce resistencia bacteriana, siendo posible de realizar múltiples aplicaciones y actúa sobre un área específica ya que es aplicada de forma tópica por lo que no genera efectos secundarios en el resto del organismo. Tiene alta selectividad por ciertas células, como ser hongos, virus, bacterias y protozoarios, causando el mínimo daño sobre las células del huésped (52). Se ha probado la aplicación de PDTa sobre diferentes células como ser fibroblastos y no se detectaron cambios significativos sobre los mismos, comprobando la baja citotoxicidad de la terapéutica (15).

El aumento de la temperatura generado por la aplicación de PDTa dentro del conducto puede llegar hasta los 45 °C. Se observó que en los tejidos perirradiculares la temperatura no aumenta más que la corporal normal por lo tanto no genera efectos negativos sobre los mismos (53). Otra de las ventajas está en que la muerte microbiana se da de forma inmediata, en cuestión de segundos, por lo que no es necesario mantener la dosis de tratamiento por tiempos prolongados como sucede con la

medicación antibiótica. Además, disminuye la necesidad de indicar antibioterapia lo cual hoy en día es de alta preocupación en el área por la resistencia a los antimicrobianos (51,54). Es importante destacar que no produce irritación ni toxicidad al ser utilizado en las concentraciones indicadas (47).

En el área de la endodoncia algunas limitantes que pueden presentarse en el tratamiento incluyen: la dificultad en la penetración de la sustancia fotosensibilizante por la complejidad anatómica presente en el sistema de conductos radiculares, la naturaleza porosa dentinaria y la interacción de la sustancia fotosensibilizante con moléculas del medio que son capaces de anular su acción (55).

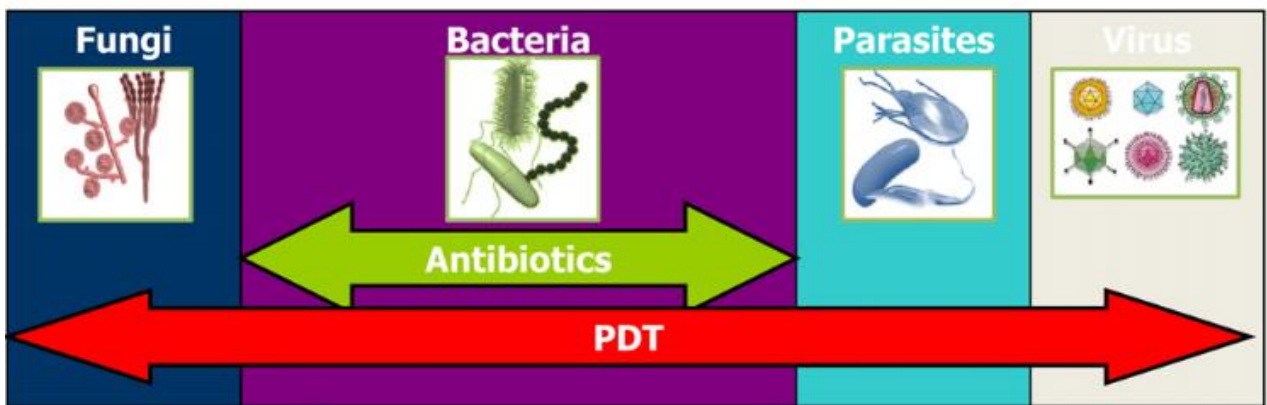


Fig. 29. Comparativa entre el espectro de acción de la antibioterapia y PDTa (46).

_ Factores intervinientes

- Luz:

Diferentes tipos de energía lumínica pueden ser utilizadas para esta clase de tratamiento. Las más frecuentemente aplicadas y estudiadas son las realizadas por medio de luz láser de baja potencia entre el rango de 630 a 680 nm, siendo el de primera elección el láser de diodo. Otra posibilidad de fuente lumínica en PDT es por medio de luz LED (Light Emitting Diodes). Este tipo de terapéutica se denomina ledterapia (8).

El LED es un dispositivo semiconductor que se compone de varias capas acopladas entre sí, que emiten luz al aplicar energía eléctrica. Tiene un polo positivo y otro negativo (p-n). Al aplicar energía los electrones se recombinan, es decir encuentran un lugar en los huecos entre la unión p-n y entran en un estado menor de energía liberando un fotón. Este tipo de electrónica es utilizado en televisores, semáforos, teléfonos móviles, etc. Uno de los beneficios más destacables del procedimiento es el bajo costo y posibilidad de acceso a la lámpara LED. Además, la radiación emitida por esta fuente lumínica es menos agresiva para el ojo humano (25). Una característica en común entre la luz LED y la luz láser es que son monocromáticas, sin embargo, la luz LED no presenta las propiedades de coherencia ni direccionalidad que caracterizan a la luz láser (29).

En el año 2015, Asnaashari et al. compararon la actividad antimicrobiana de la Terapia fotodinámica por medio de luz LED (630 nm) y por medio de láser de diodo (810 nm), ambos asociados a azul de toluidina como sustancia fotosensibilizante, sobre *Enterococcus faecalis*. El siguiente estudio fue realizado in vitro, incubando esta especie sobre 56 piezas unirradiculares. Los resultados del recuento microbiano demostraron una disminución mayor de los microorganismos al realizar la terapéutica por medio de ledterapia (52).



Fig. 30. Dispositivos LED utilizados en odontología y medicina, de emisión azul, roja y blanca (25).

- Sustancias fotosensibilizadoras

Las sustancias fotosensibilizantes utilizadas en procedimientos de fotobiomodulación están compuestas por moléculas naturales o sintéticas capaces de absorber la energía lumínica, generando por diferentes procesos químicos especies oxidantes para la eliminación de células patógenas (8).

Las moléculas son absorbidas selectivamente por microorganismos, fijándose en la pared celular de los mismos, incluyendo: bacterias, hongos, virus y protozoarios. Este tipo de terapéutica es también utilizada en casos de herpes simple (47). Las sustancias fotosensibilizantes tienen un alto grado de selectividad por este tipo de células en comparación con las demás células del huésped, por lo que no tienen efectos tóxicos contra las mismas al ser utilizados en las concentraciones adecuadas. Por sus altas cargas catiónicas penetran rápidamente en las células de la pared bacteriana que están cargadas negativamente (56).

La composición de este tipo de sustancias es variable y están compuestas por numerosos excipientes, incluyendo buffers, sustancias conservantes y surfactantes. La acción de las sustancias buffers tienen el fin de mantener las condiciones de pH elevadas, ya que el efecto de la terapéutica se ve beneficiado ejerciendo eficientemente su mecanismo de acción por las condiciones de alcalinidad del medio (57).

Propiedades ideales de las sustancias fotosensibilizadoras:

- Pureza química
- Costo accesible
- Elevada capacidad de absorción de energía
- Alta selectividad por bacterias, hongos, virus y células tumorales
- Citotóxicas ante la presencia de luz en ciertas longitudes de onda
- No ser citotóxicas ante la ausencia de energía lumínica
- Peso molecular pequeño para poder penetrar en los conductos secundarios y accesorios.
- No causar efectos mutagénicos ni carcinógenos (8).

Una característica en común que presentan todas las sustancias fotosensibilizantes es la conjugación. Este tipo de sistemas ocurre cuando la molécula se compone de enlaces covalentes simples y dobles. Son enlaces alternados de forma que presenta dos orbitas para que se dé la deslocalización electrónica, pasando de un estado fundamental a un estado excitado lo cual es fundamental para la PDT (8,54).

La sustancia fotosensibilizante debe ser seleccionada según sus características adaptándose al caso clínico (26).

Las fenotiazinas son las sustancias más elegidas y estudiadas para el procedimiento de PDTa. Son moléculas catiónicas que contienen una estructura fundamental formada por un anillo tricíclico aromático lo cual le permite la absorción de la luz en 600-660 nm. Fueron creadas para su uso en la industria textil alemana a fines del siglo IXX. Mas adelante se emplearon con fines medicinales por ejemplo para curar la malaria. Dentro de este grupo se encuentra el azul de metileno y el azul de toluidina, ambos son de color azul. Han sido los más estudiados y utilizados con resultados exitosos en este tipo de terapéutica. El azul de metileno fue patentado en el año 1870 por Heinrich Caro (56).

El mismo, tiene el beneficio de lograr el pasaje a través de los canales de la membrana externa de bacterias Gram negativas, por ser hidrofílico y de bajo peso molecular. No sufre interferencia de biomoléculas endógenas como ser la hemoglobina y la melanina. En baja concentración no produce acción citotóxica y la dosis necesaria para eliminar a las bacterias no afecta las células vecinas, por lo que es ampliamente aceptado en el campo de la salud (58). Presenta efectos citotóxicos sobre las bacterias del género *Streptococcus* aun sin la exposición a la luz (57). Está demostrado que el azul de metileno es una de las sustancias fotosensibilizantes con mayor poder de penetración en los túbulos dentinarios, lo cual permitiría la eliminación de microorganismos en zonas donde comúnmente no se podría acceder mediante las técnicas convencionales de endodoncia, siendo este un gran beneficio a la hora de controlar la infección endodóntica (53).

Las diferentes presentaciones comerciales se encuentran en forma de jeringa o de cartucho, y en concentraciones de 0.005%, 0.01% y 0,1%. La elección de la concentración a utilizar depende de varios factores. El principal es el compromiso estético de la pieza, ya que a mayor concentración es más factible que ocurra la tinción del diente con un tono azulado. La edad de la pieza es un factor a tener en cuenta ya que, a mayor diámetro de los túbulos dentinarios, mayor penetración del azul de metileno. Generalmente seleccionamos la más baja concentración al tratarse de piezas anteriores por motivos estéticos (29).

El azul de toluidina es una sustancia de tipo hidrofílica, presenta bajos niveles de toxicidad, tiene muy buena selectividad celular y es de fácil acceso. Presenta un alto índice de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y admite longitudes de onda de entre 600-660 nm (59). Las fenotiazinas son capaces de acumularse selectivamente en las células, específicamente en las mitocondrias generando un compromiso celular que lleva a la muerte de las mismas. Al igual que el azul de metileno,

se debe tener en cuenta que en altas concentraciones puede generar pigmentación en los tejidos circundantes (60).

Otra sustancia utilizada en este tipo de terapéuticas es la curcumina. Es una sustancia de origen natural que deriva de las raíces de la planta *curcuma longa*. En PDT es utilizada en el espectro de luz ultravioleta. La eosina, eritrosina y rosa de bengala son sustancias de color rojo que son fotoactivadas por luz de color verde (56). Dentro de las sustancias fotosensibilizantes, las fenotiazinas como el azul de metileno y el azul de toluidina, las clorinas y porfirinas son activadas por fuentes de luz láser en el espectro rojo visible de 635 a 675 nm (43).

Con el objetivo de mejorar los resultados terapéuticos y de aumentar el poder de penetración de la sustancia fotosensibilizante a zonas de difícil acceso, surge el estudio de las nanopartículas. Estas miden de 1 a 100 nm. Para el logro de efectos sinérgicos pueden utilizarse asociadas a diferentes sustancias como ser fotosensibilizadores, moléculas bioactivas y diferentes tipos de medicación (16). Las nanopartículas individualmente presentan propiedades antimicrobianas por sus altas cargas catiónicas (15).

Shrestha et al. en el año 2014 realizaron estudios con nanopartículas asociándolas y encapsulándolas con diferentes sustancias fotoactivas y PDTa, para poder aumentar el poder de penetración en el sistema de conductos y por lo tanto potenciar la acción de esta. Se observaron múltiples beneficios al asociar la terapéutica convencional con las mismas. Las nanopartículas generan mayor estabilidad de la sustancia fotosensibilizadora, permiten un aumento de la concentración de la misma a nivel celular, presentan mayor afinidad por la membrana celular bacteriana y tiene selectividad más específica hacia las células patógenas (61).

En una revisión sistemática realizada por Araujo et al. se analizaron diferentes artículos que trataban el cambio de coloración de la estructura dentaria tras la aplicación de PDTa. Se investigaron cinco sustancias fotosensibilizantes diferentes (azul de metileno, azul de toluidina, verde de malaquita, indocianina y curcumina). Todos los estudios fueron realizados de forma *in vitro*. Los resultados demostraron que el cambio de coloración es frecuente en este tipo de procedimientos. En dos casos (mediante indocianina y curcumina) no se encontró un cambio significativo de coloración. Concluyen que faltan estudios *in vivo* para evaluar más objetivamente el cambio de coloración en las piezas dentarias. Resaltan que es fundamental hacer una buena remoción de la sustancia fotosensibilizante del conducto radicular mediante irrigación y activación de la misma por medio de ultrasonido para evitar discromías dentales (62).

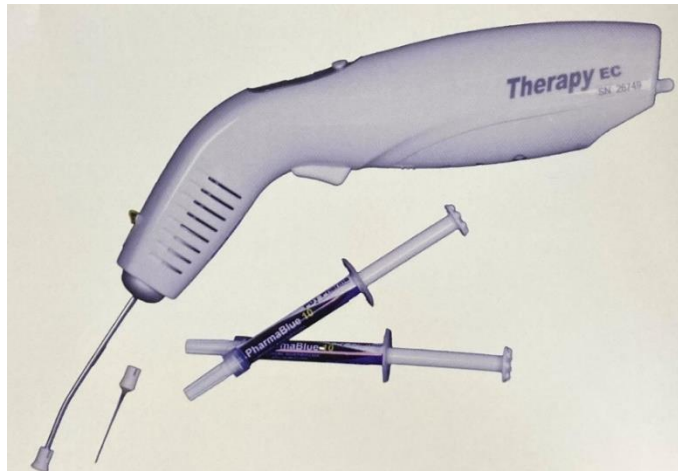


Fig. 31. Materiales necesarios para la aplicación de PDTa por medio de láser de baja potencia, azul de metileno y fibra óptica (29).

- Oxígeno del medio

La disponibilidad de oxígeno en el medio es fundamental para que se pueda llevar a cabo la acción de la terapia fotodinámica, y la formación de especies reactivas de oxígeno. El sistema de conductos radiculares puede presentarse como un ecosistema con escasa disponibilidad de oxígeno, lo que podría ser una limitante para el tratamiento. El conducto debe encontrarse en ciertas condiciones que serán detalladas mas adelante para poder seleccionar esta estrategia antimicrobiana como la apropiada para el caso (53).

¿Cómo actúa? Reacciones foto químico biológicas

Al interactuar la luz con la sustancia fotosensibilizante se genera una reacción química capaz de actuar sobre los microorganismos promoviendo el control de la infección. Tras la aplicación de la luz láser, la sustancia fotosensibilizante que es absorbida y se fija en los microorganismos absorbe un fotón pasando de un estado de baja energía (S_0) a un estado molecular excitado, estado tripleto (T_1). Este tiene mayor tiempo de vida que el anterior e interacciona con el oxígeno del medio. Por medio de dos mecanismos diferentes se generan reacciones químicas que van a dar como resultado la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Los mismos son capaces de modificar componentes celulares fundamentales de forma irreversible, resultando en una muerte celular selectiva (8,63).

Reacción tipo 1: formación de radicales libres a través de la transferencia de un electrón entre la sustancia fotosensibilizadora en estado excitado y los componentes del sistema, genera un anión radical superóxido, peróxidos y radicales hidroxilo. Los radicales libres son especies poco estables que presentan electrones desemparejados, por lo que son altamente reactivos (8).

Reacción tipo 2: transferencia de energía de la sustancia fotosensibilizadora en un estado excitado al oxígeno del medio para formar oxígeno singlete (63). Es la principal vía de destrucción microbiana (47). Este es muy reactivo y citotóxico, además de ser altamente electrofílico. Genera daños en las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y otros componentes celulares microbianos. Produce consecuentemente la oxidación celular de la membrana plasmática generando alteraciones en su permeabilidad y rotura del ADN resultando en una muerte celular programada (15,59).

La acción se da directamente por la oxidación de los nucleótidos que forman al ADN y sobre los grupos azúcares que unen las cadenas. La base más susceptible al oxígeno singlete es la guanina. Dentro de la muerte celular programada encontramos tres tipos, la autofagia, la necrosis y la apoptosis. La apoptosis es la más favorable y organizada de estas tres. Los microorganismos inician la muerte celular a través de un proceso que forma parte de su metabolismo. El resultado final implica una fragmentación del ADN nuclear y los restos celulares se disocian siendo fagocitados por células adyacentes. A diferencia de la necrosis no produce inflamación ni genera daños en las células periféricas del medio pudiendo generar otras complicaciones como irritación y toxicidad en los tejidos (64).

Dependiendo de la estructura celular microbiana, las células presentan diferentes respuestas a los mecanismos de acción de la PDTa. La reacción tipo 1 afecta más que nada a bacterias Gram positivas (la concentración máxima de sustancia fotosensibilizante presente en la membrana celular se encuentra a los 1 a 5 minutos). La reacción tipo 2 actúa sobre microorganismos Gram negativos. Una delgada capa de purinas actúa como barrera en el pasaje de la sustancia fotosensibilizadora deteniendo la acción de la terapia fotodinámica (59). Las especies reactivas de oxígeno presentan una vida media muy corta, es decir, forman parte de una reacción química que se genera en un tiempo muy limitado y actúan específicamente en la zona de aplicación. No tienen efecto a distancia (48).

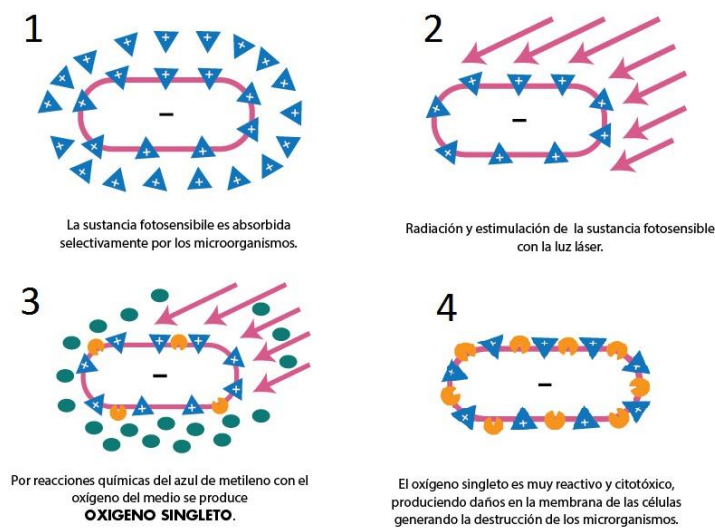


Fig. 32. Esquema Mecanismo de Acción de PDTa. Martegani, De León, Vilas

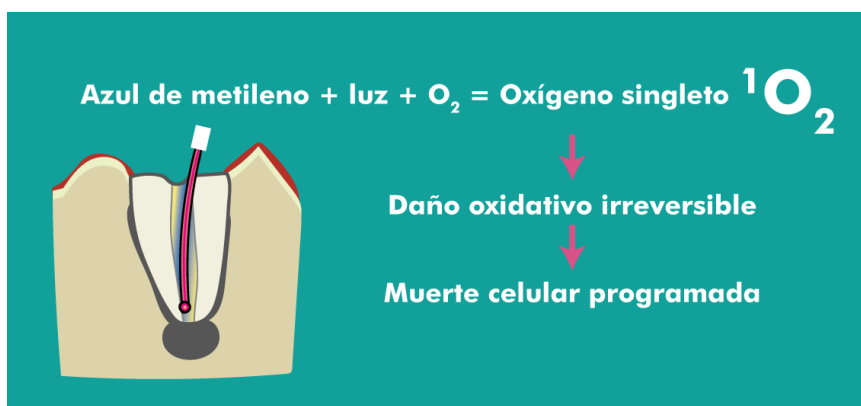


Fig. 33. Esquema PDTa. Martegani, De León, Vilas

La eficacia del uso de terapia fotodinámica depende de los factores microbiológicos del sitio de infección. Se demostró una mayor susceptibilidad de las células Gram positivas en comparación con las Gram negativas. Las primeras no presentan catalasas, que son enzimas esenciales para la protección ante daños oxidativos celulares (57). Además, las bacterias de tipo Gram positivas contienen una membrana citoplasmática rodeada por una pared celular relativamente porosa compuesta de peptidoglicano y ácido lipoteicoico que permite que el paso de la sustancia fotosensibilizante se logre con mayor facilidad. En los microorganismos Gram negativos la membrana externa forma

una barrera de permeabilidad eficaz entre la célula y su entorno y tiende a frenar la penetración de muchas sustancias fotosensibilizantes (46).

El menor efecto de la desinfección fotoinducida se da ante los microorganismos de tipo fúngicos por su complejidad estructural y tamaño. En cuanto a la organización de las bacterias, las agrupadas en forma de biofilm son más difíciles de eliminar que las que se presentan en forma planctónica, esto se debe a la presencia de matriz extracelular y a la densidad celular alta presente en el biofilm que bloquea el ingreso de la sustancia fotosensibilizante (65).

Dentro de los microorganismos capaces de ser destruidos por medio de PDTa se encuentra *Candida albicans*, un hongo que se puede encontrar frecuentemente en infecciones persistentes. El mecanismo de destrucción de esta clase de hongos implica la penetración hacia la pared celular, permitiendo que el colorante fotosensible invada la célula afectando orgánulos celulares internos como ser las mitocondrias induciendo la muerte celular (58).

Paz-Cristobal et al. realizaron una investigación con el fin de demostrar si la terapéutica por medio de terapia fotodinámica antimicrobiana puede generar la destrucción de especies de *Candida albicans* resistentes a la medicación antifúngica (azole-resistentes), utilizando hipericina y azul de metileno como sustancias fotosensibilizante. Concluyeron que la PDTa es efectiva para la eliminación de *Candida albicans* independientemente de su patrón de resistencia ante la medicación antifúngica (66).

La mayoría de los estudios de Terapia Fotodinámica antimicrobiana apuntan a la evaluación del recuento microbiológico tras la aplicación de la terapéutica en diferentes parámetros con el fin de establecer un protocolo de aplicación óptimo. En el año 2012 Bezerra et al. realizaron un estudio histopatológico en perros con el fin de evaluar los tejidos periapicales tras la aplicación de PDTa en piezas donde se indujo la periodontitis apical. Comparando los resultados con y sin la aplicación de la terapéutica asociada a la endodoncia convencional de las piezas. Se estudiaron microscópicamente imágenes histológicas de la zona periapical evaluando el tejido apical mineralizado, células inflamatorias, grosor del ligamento periodontal, reabsorción de los tejidos mineralizados (dentina, cemento y tejido óseo) y tamaño de la lesión periapical. En los resultados, la variable más representativa estuvo en el recuento de células de tipo inflamatorias, siendo este mayor al prescindir de la PDTa en el tratamiento de endodoncia. También se observaron diferencias en la fibrogénesis y angiogénesis. Esto se puede deber a la mayor difusión de oxígeno en los tejidos periapicales ya que la capacidad de formación de colágeno por medio de los fibroblastos aumenta en presencia de oxígeno en el medio. La PDTa como terapéutica es capaz de eliminar a las bacterias Gram negativas productoras de endotoxinas. Las endotoxinas son lipopolisacáridos bacterianos,

componentes de la pared celular de los anaerobios Gram negativos. Inducen efectos inmunológicos en el hospedero y estimulan la producción de quininas, un importante mediador inflamatorio responsable del dolor (67).

García et al. estudiaron la respuesta inflamatoria periodontal y la pérdida de tejido óseo al utilizar diferentes concentraciones de sustancias fotosensibilizantes. Utilizaron fenotiazinas (azul de metileno y azul de toluidina). El mismo fue realizado en molares inferiores de 162 ejemplares de ratas. Observaron como la PDTa influía directamente sobre los factores moduladores de la reabsorción ósea. Los resultados indicaron que la pérdida ósea fue menor al utilizar las sustancias fotosensibles en concentraciones mas bajas. Los autores aclaran que esto podría deberse a la dificultad para penetrar en los tejidos de la luz laser por la alta concentración de la misma (68).

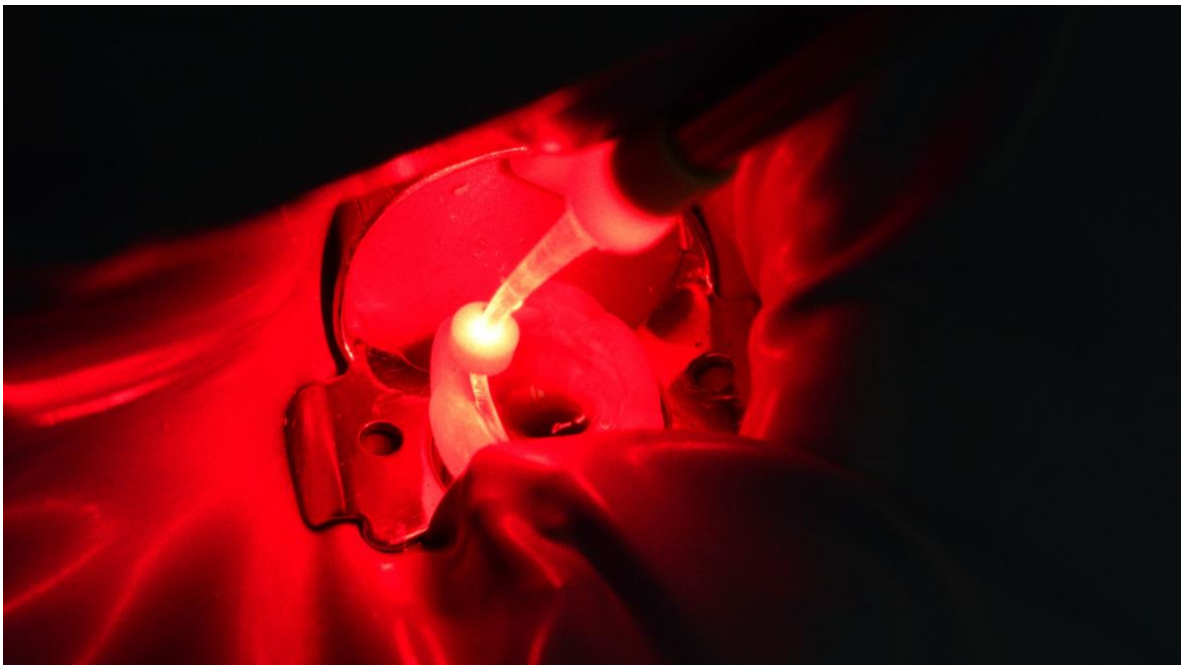


Fig. 34. Caso clínico empleando PDTa. Gentileza Dra. S. Oyarzabal

4.3.2 Aplicaciones clínicas

El manejo clínico de la PDTa es relativamente sencillo de realizar. Se deben mantener las mismas precauciones de asepsia que en cualquier tratamiento de Endodoncia. Hay que recordar que la PDTa es aplicada como una terapéutica coadyuvante al tratamiento endodóntico convencional, por lo tanto, no se debe sustituir ninguna etapa del mismo. Luego de la limpieza y conformación del conducto radicular, se debe secar con conos de papel estériles que se correspondan con la lima memoria. Se coloca con una aguja de bajo calibre la sustancia fotosensibilizante llenando el conducto en su totalidad, logrando una mejor difusión al ser distribuido con una lima K. Una condición fundamental para que la terapia pueda ejercer su acción es el íntimo contacto de la sustancia fotosensibilizante con los microorganismos, ya que la misma no actúa a distancia (43). Varias investigaciones hacen hincapié en el beneficio de la activación de la sustancia fotosensibilizante para generar una mayor penetración en el sistema de conductos radiculares y por lo tanto generar un mayor contacto con las bacterias presentes en el medio. Esto se puede realizar por medio de limas manuales, con movimientos de agitación durante 60 segundos o por la activación mediante puntas de ultrasonido. Por medio de la segunda estrategia se obtuvieron mejores resultados ya que las ondas ultrasónicas aumentan el poder de penetración de la sustancia fotosensibilizante en la biopelícula (57,69). Además, la agitación de la misma ayudaría a eliminar burbujas de aire que puedan impedir el contacto de la sustancia con los microorganismos (53).

En un estudio realizado por Wang et al. se estudió la penetración del azul de metileno como sustancia fotosensible con el fin de comparar diferentes métodos para la activación del mismo. Se planteó que la acción terapéutica de la PDTa depende en gran parte de la profundidad conseguida del mismo. Se realizó de forma *in vitro*, seleccionando treinta premolares inferiores y se utilizó azul de metileno al 1%. Se dividieron en tres grupos: activación por medio de ultrasonido, activación sónica y grupo de control en el cual se llevó la sustancia fotosensibilizante al conducto con jeringa y aguja, pero no se activó la misma. El análisis de los resultados demostró que los casos con mayor penetración del azul de metileno fueron los activados por medio de dispositivos sónicos. Se concluyó la importancia de su activación para lograr mayor profundidad terapéutica (70).

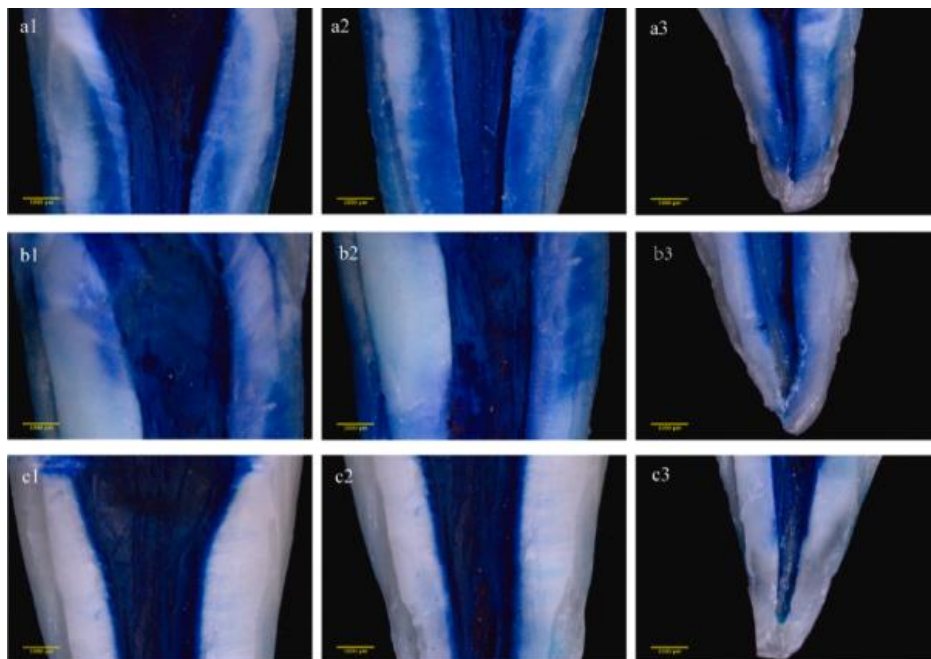


Fig. 35. Estudio comparativo de la penetración del azul de metileno en tercios cervical (1), medio (2) y apical (3), por medio de activación sónica (A), ultrasónica (B) y sin activación (70).

El periodo de preirradiación es un factor muy importante en la terapéutica ya que es el tiempo que transcurre entre la aplicación del fotosensibilizador en el área y su activación por la luz. En este tiempo se genera la biodistribución del fotosensibilizador. Es fundamental permitir un tiempo de preirradiación de mínimo 5 minutos para que la sustancia logre penetrar al máximo en los túbulos dentinarios alcanzando a las bacterias. Si se sospecha de una infección con hongos el tiempo de preirradiación puede ser mayor debido a la complejidad estructural de la *Candida albicans* y su tamaño que es 25-50 veces mayor que el de una bacteria (59).

Es fundamental antes de aplicar la irradiación tan con luz láser como con luz LED, retirar los excesos por medio de conos de papel estériles para lograr una correcta activación. De lo contrario, los excesos de sustancia fotosensibilizante absorben la luz sin dejar que esta penetre en profundidad (59). El conducto debe estar limpio, libre de saliva o sangre ya que presentan moléculas que limitan la acción de las especies reactivas del oxígeno, como la catalasa y la lactoperoxidasa, que interfieren con el proceso de fotosensibilización (53,69). La longitud de onda de la luz aplicada debe ser compatible con el fotosensibilizador seleccionado. Cuando esta es mayor a lo que debería ser es contraproducente ya que conduce a un consumo en exceso del oxígeno del medio (69). Para poder alcanzar la zona apical del conducto se utiliza una fibra óptica flexible con forma cónica, que se coloca en el extremo del aparato láser, y emite la luz a 360 grados

dirigiéndola lateralmente, la cual realiza la transmisión de la radiación láser en toda la superficie del sistema de conductos. Permite la distribución de la luz de forma vertical y horizontal, tridimensionalmente (57). En una investigación realizada por Sabino et al. concluyeron que la mejor forma de lograr la inactivación microbiana en conductos curvos es utilizando este tipo de fibras, en comparación con la sola irradiación de luz colocando la punta del láser en la cámara pulpar (65).

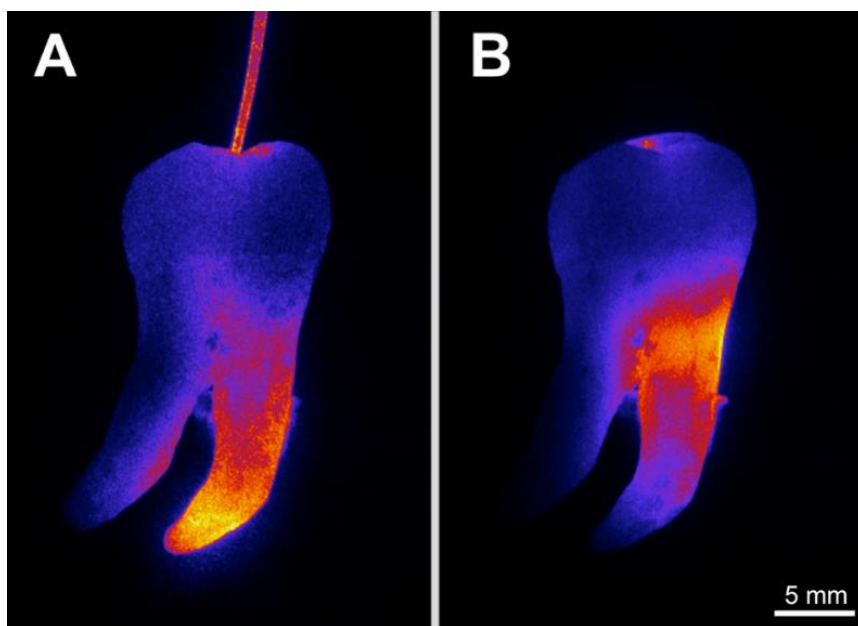


Fig. 36. En la imagen A se observa la distribución de la luz utilizando una fibra óptica, la cual logra llegar a nivel apical y en la imagen B la distribución de la luz colocando la punta del láser en la cámara pulpar sin fibra (65).

La fibra óptica se utiliza realizando movimientos helicoidales en dirección corono apical. Durante la reacción fotodinámica se va consumiendo progresivamente el oxígeno limitando la acción buscada. Los movimientos helicoidales contribuyen a la reoxigenación de la sustancia fotosensibilizante. Otra hipótesis planteada es que estos movimientos generan la desorganización del biofilm y favorecen el aumento en la distribución y penetración de la sustancia fotosensibilizante (65).

La fibra óptica se puede desinfectar luego de su uso con ácido peracético al 1%, aunque lo más indicado es descartarla. Se utiliza láser rojo de baja potencia (100 mw) en 9 J durante 90 segundos. Luego de la aplicación de la terapéutica se debe eliminar en su totalidad la sustancia fotosensibilizante con conos de papel, torundas estériles e irrigación con suero. La aspiración con una fina cánula estéril simplifica este proceso. La aplicación de PDTa se puede realizar en mas de una sesión. En estos casos se debe

colocar la medicación indicada entre sesiones y se debe asegurar un buen sellado coronario. En la siguiente sesión se repite la aplicación de PDTa. Luego de la terapéutica se puede irradiar con el mismo láser, retirando la fibra con el objetivo de fotobiomodulación de los tejidos, y la aceleración de la reparación ósea de los tejidos perirradicales (29).

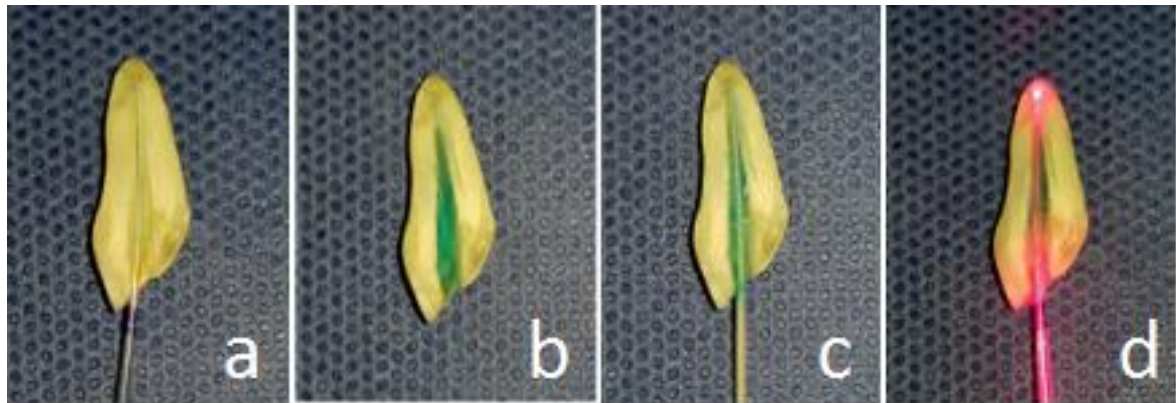


Fig. 37. Esquema de PDTa. Martegani, De León, Vilas

a) prueba de la fibra en el conducto en la medida de trabajo correspondiente.

b) aplicación del azul de metileno.

c) remoción de excesos con cono de papel estéril.

d) irradiación con luz láser.

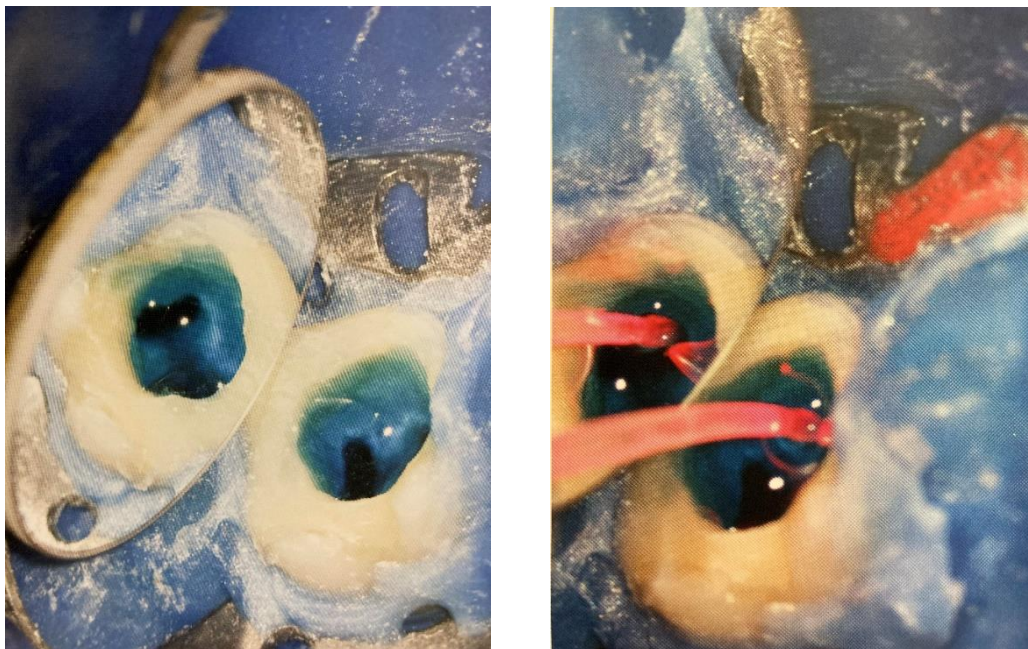


Fig. 38. Caso clínico tratado con PDTa como coadyuvante, primera imagen tomada durante el tiempo de preirradiación, segunda imagen muestra la irradiación por medio de luz láser con fibra (29).

5. DISCUSIÓN

Existen varios factores que pueden generar variaciones en los resultados terapéuticos de la terapia fotodinámica para el control de la infección. Se han realizado múltiples estudios in vitro e in vivo, con el fin de dar con la mejor combinación de sustancia fotosensibilizante, tiempo de preirradiación, fuente lumínica utilizada y longitud de onda seleccionada (15). No se ha establecido un único protocolo de aplicación ya que cada uno de los factores puede ser aplicado bajo diferentes parámetros (69).

Varios estudios coinciden en que la sola aplicación de PDTa como método antimicrobiano no es tan eficiente como la irrigación por medio de hipoclorito de sodio durante el tratamiento endodóntico, por lo tanto, este procedimiento debe utilizarse como coadyuvante a la desinfección química y mecánica del conducto (71). Garcez et al. en el año 2007 investigaron en 20 pacientes la variable en el resultado de la aplicación de PDTa para controlar la infección en casos de endodoncia. Llegaron a la conclusión de que este tipo de procedimiento debe ser realizado en conjunto y de forma adicional al tratamiento endodóntico con todas sus etapas, ya que no se logran buenos resultados si se intenta sustituir alguna de las mismas. Al ser aplicado luego de la limpieza y conformación radicular la reducción bacteriana alcanzada fue mayor que mediante la técnica endodóntica convencional. Además, observaron que la aplicación de PDTa en una segunda sesión aumenta el porcentaje de éxito del tratamiento. Esto se debe a que el biofilm se encuentra más desorganizado que en la primera sesión lo que permite lograr que la sustancia fotosensibilizante penetre más con mayor profundidad a nivel celular (72). Los mismos autores, demostraron por primera vez por medio de un estudio in vivo el efecto de la PDTa sobre microorganismos con alta resistencia antibiótica (*Enterococcus faecalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces israeli*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas gingivalis*, *Enterobacter* y *Propionibacterium*) logrando la eliminación total de todas las especies. La alta susceptibilidad de estos microorganismos anaerobios a el oxígeno reactivo explicaría este fenómeno (73).

La desinfección fotoinducida ha sido investigada sobre múltiples especies microbianas que se encuentran presentes en infecciones de tipo endodónticas. Uno de los principales microorganismos en estudio en endodoncia es *Enterococcus faecalis*. En la literatura podemos encontrar varios artículos que apuntan a la valoración de la reducción de esta especie de microorganismos mediante PDTa, por su alta resistencia a medicaciones utilizadas a diario en endodoncia especialmente al hidróxido de calcio y por lo tanto la dificultad para su eliminación. Estructuralmente presentan una membrana

parcialmente porosa, alojada sobre una gruesa capa de peptidoglicano y ácido lipoteicoico. Este tipo de disposición morfológica favorece la difusión del fotosensibilizante lo cual podría resultar prometedor al momento de aplicar PDTa (69). Fonseca et al. estudiaron la viabilidad de la PDTa como agente bactericida para eliminar colonias de *Enterococcus faecalis* logrando una reducción de la cepa en un 99.9% (74). En una investigación realizada por Prazmo et al. confirman nuevamente la acción beneficiosa de tratar la infección endodóntica por medio de PDTa para la erradicación de este tipo de microorganismos (69). Por otro lado, Foschi et al. observaron una reducción de un 77.5% (2). Los tres estudios fueron realizados de forma in vitro en dientes de humanos extraídos.

Prazmo et al. estudiaron la aplicación de terapia fotodinámica in vitro en piezas extraídas luego de su limpieza y conformación, con el fin de evaluar los resultados al realizar una sola aplicación de PDTa y 2 aplicaciones en una misma sesión. Confirmaron que al repetir la aplicación el porcentaje de éxito aumentaba, obteniendo valores del 45% al 95% de CFU/ml inicial (69).

Fimple et al. realizaron un estudio in vitro para evaluar la reducción de *Actinomyces Israelii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Bacterias comúnmente halladas en casos de infecciones endodónticas persistentes. Se logró confirmar la función antimicrobiana de la PDT sobre microorganismos resistentes. Los resultados de PDTa combinando azul de metileno con irradiación por medio de luz láser fueron mejores que al solo aplicar laserterapia o azul de metileno sin luz (75).

Por otro lado, Souza et al. estudiaron el efecto de la terapia fotodinámica utilizando azul de metileno y azul de toluidina como agentes fotosensibilizantes. Las muestras fueron tomadas luego de la irrigación con hipoclorito de sodio y posteriores a la aplicación de PDTa. No se observaron diferencias significativas en el uso de ambos agentes fotosensibilizantes. Los valores hallados luego de realizar la limpieza mediante hipoclorito de sodio y conformación de los conductos radiculares no mostraron diferencias significativas con los casos en los cuales se aplicó PDT luego de tratamiento convencional. Los autores aclaran que estos resultados se podrían explicar por la baja concentración de oxígeno disponible intraconductos y la baja difusión del fotosensibilizador en los conductos radiculares (76).

Una estrategia para obtener una mayor acción de la sustancia fotosensible es su activación por medio de puntas de ultrasonido. Tennert et al. realizaron una investigación para valorar algunos factores que podrían mejorar los resultados de la aplicación de PDTa, determinando la diferencia entre el uso de PDTa sola y

acompañada por el protocolo de irrigación mediante hipoclorito de sodio y EDTA, y la activación de la sustancia fotosensibilizante mediante ultrasonido. Concluyeron que los mejores resultados están atribuidos a la técnica al realizar la limpieza química previa correspondiente acompañado por la activación ultrasónica del fotosensibilizante. La utilización de PDTa sola fue la que arrojó los peores resultados (71).

Balhaddad et al. se enfrentaron a la disyuntiva de evaluar cual sería la mejor técnica para esta terapéutica para la eliminación de *Enterococcus faecalis*, considerando tres variables. La concentración de azul de toluidina, la longitud de onda aplicada (en este casos se utilizó luz LED como fuente lumínica) y el tiempo de irradiación de la sustancia fotosensibilizante. Se observó que aumentar el tiempo de preirradiación (en 1, 3 y 5 minutos) no implicaba una mayor disminución de la cantidad de *Enterococcus faecalis*. La sola aplicación de luz LED o de azul de toluidina sin irradiar mediante luz LED no arrojó buenos resultados, quedando remanentes significativos de microorganismos en el medio. En cuanto a la longitud de onda aplicada se vio que al aumentar de 36 a 180 J/cm² los resultados eran mas exitosos. La cantidad de energía aplicada se debe limitar teniendo en cuenta la protección de la pulpa y de los tejidos circundantes (60).

6. CONCLUSIONES

El estudio y comprensión de la infección endodóntica, la microbiología y las formas de interacción microbiana son fundamentales al momento de decidir cómo proceder en las diferentes etapas terapéuticas del tratamiento endodóntico. La investigación en la materia apunta a mejorar los niveles de desinfección radicular, optimizando técnicas y materiales.

La aplicación de tecnología láser ha sido estudiada en Odontología con resultados promisorios en todas sus áreas.

El control de la infección mediante Terapia Fotodinámica antimicrobiana es un procedimiento de fácil aplicación, con resultados cuya evidencia es cada vez mas robusta, en el campo de la Endodoncia. Su combinación con los métodos tradicionales brinda una estrategia que no genera toxicidad en las células del hospedero ni tampoco resistencia bacteriana, entre otros beneficios.

La literatura reporta evidencia de que al asociar el tratamiento endodóntico con PDTa, los valores de desinfección se ven incrementados, lo cual resulta interesante dada la preocupación que genera el hecho de que la resistencia antimicrobiana a los antibióticos es cada vez mayor.

No existe aún un protocolo establecido que indique cuales son los parámetros óptimos al momento de aplicar PDTa por lo que es un tema que continúa en estudio.

7. REFERENCIAS

1. Gergova R, Georgieva T, Angelov I, Mantareva V, Valkanov S, Mitov I, et al. Photodynamic therapy with water-soluble phtalocyanines against bacterial biofilms in teeth root canals. *Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care III*. 2012;8427(44):709-20.
2. Foschi F, Fontana CR, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas AG, et al. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro. *Lasers Surg Med*. 2007;39(10):782-7.
3. Alfenas C, Santos MF, Takehara GN, Paula MV. Terapia fotodinâmica na redução de micro-organismos no sistema de canais radiculares. *Rev Bras Odontol*. 2011;68(1):68-71.
4. Peters OA, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int Endod J*. 2001;34(3):221-30.
5. Berman L, Hargreaves K. *Cohens Pathways of the pulp*. 12.^a ed. Canada: ElSevier; 2022. 1-3489 p.
6. Convissar RA. *Laser en odontología. Principios y práctica*. 1.^a ed. Nueva York; 2012. 1-318 p.
7. Chrepa V, Kotsakis GA, Pagonis TC, Hargreaves KM. The Effect of Photodynamic Therapy in Root Canal Disinfection: A Systematic Review. *J Endod [Internet]*. 2014;40(7):891-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.03.005>
8. Porta K, Agnelli R, Miranda C. *Biofotonica, conceitos e aplicacoes*. 1.^a ed. Sao Paulo; 2017. 9-257 p.
9. Lopez M. del C, Piovesan S, Patron C. Orientaciones para realizar una monografía de revisión. Facultad de Odontología Departamento de Publicaciones. 2016;1-28.
10. Lopes H, Siqueira J. *Endodontia: Biología e Técnica*. 4.^a ed. Rio de Janeiro: ElSevier; 2015.
11. Canalda C, Brau E. *Endodoncia. Técnicas Clínicas y Bases Científicas*. 3.^a ed. Barcelona: ElSevier; 2014. 1-371 p.
12. Siqueira JF. Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(3):281-93.
13. Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. Vol. 55, *International Endodontic Journal*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 512-30.
14. Siqueira JF, Rôças IN. *Treatment of endodontic infections*. 2.^a ed. Berlin: Quintessenz Publishing Deutschland; 2022. 1-489 p.

15. Dummer PM, Ahmed HM. Endodontic Advances and Evidence-Based Clinical Guidelines. 1.ª ed. Wiley Blackwell; 2022. 1-832 p.
16. Wong J, Manoil D, Näsman P, Belibasakis GN, Neelakantan P. Microbiological Aspects of Root Canal Infections and Disinfection Strategies: An Update Review on the Current Knowledge and Challenges. *Frontiers in Oral Health*. 2021;2(672887):1-19.
17. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, et al. Photodynamic Treatment of Endodontic Polymicrobial Infection In Vitro. *J Endod*. 2008;34(6):728-34.
18. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 1 de mayo de 2019;24(3):e364-72.
19. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: Study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010;36(8):1277-88.
20. Botto M, Fong KY, So AK, Koch C, Costerton JW, Stewart PS, et al. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections [Internet]. Vol. 64, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* Walport; 1998. Disponible en: <https://www.science.org>
21. Zambrano de la Peña S, Salcedo-Moncada D, Petkova- Gueorguieva M, Ventocilla Huasupoma M. Biofilm en Endodoncia: una revisión. *Odontología Sanmarquina*. 29 de enero de 2017;19(2):45.
22. Liebana J. *Microbiología Oral*. 2.ª ed. Madrid: Mc Graw Hill; 2002. 653 p.
23. Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *The Dental Clinics of North America*. 2004;48(4):751-70.
24. Genovese W. *Laser de baixa intensidade*. Sao Paulo: Editora Santos; 2007. 130 p.
25. Garcez A, Ribeiro M, Núñez S. *Laser de baixa potencia. Principios basicos e aplicacoes clínicas na odontologia*. 1.ª ed. Sao Paulo: Elsevier; 2012. 472 p.
26. Freitas P, Simoes A. *Lasers in dentistry*. Willey Blackwell; 2015. 357 p.
27. Valiente C, Garrigó M. *Laserterapia y Laserpuntura para estomatología*. Ciudad de la Habana: Ecsmed; 2006. 92 p.
28. Olivi G, Olivi M. *Lasers in Restorative Dentistry A Practical Guide*. 1.ª ed. Roma: Springer; 2016. 272 p.
29. Ana Cecilia Aranha. *Lasers na prática clinica diária*. 1.ª ed. SA publicacoes. 2021. 265 p.
30. Rene Franzen. *Principios del láser en medicina y odontología*. Vol. 1. Lulu Press; 2016. 170 p.

31. Dimitrov S, Dogandzhiyska V, Ishkitiev N. Effect of laser irradiation with different wavelength on the proliferation activity of human pulp fibroblast cells, depending on irradiation parameters and hard tissue thickness. *Journal of IMAB-Annual Proceeding* . 2009;28-31.
32. Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *J Biomed Sci*. 2009;16(1).
33. Claudio I, Galdames S, Constanza M, Sepúlveda L, Gonzalo M, López C. Efecto de la Aplicación de Láser de Baja Potencia Sobre la Mucosa. *Int J Morphol*. 2007;25(3):523-8.
34. Parker S. Laser regulation and safety in general dental practice. *Br Dent J*. 2007;202(9):523-32.
35. Robledo H. Guía de estudio de la ciencia fundamental del laser. Vigo: Editorial Academia Española; 548-596 p.
36. Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J*. 2000;33:173-85.
37. Lee HN, Chen PH, Huang CY, Chen CM, Jeng JH, Chen YK, et al. Efficacy assessment of laser Doppler imager in diagnosing the pulp vitality after dental trauma. *J Dent Sci*. 2022;18.
38. Mohammadi Z. Laser applications in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2009;59(1):35-46.
39. Alsofi L, Khalil W, Binmadi NO, Al-Habib MA, Alharbi H. Pulpal and periapical tissue response after direct pulp capping with endosequence root repair material and low-level laser application. *BMC Oral Health*. 2022;22(1).
40. Stabholz A, Sahar-Helft S, Moshonov J. Lasers in endodontics. *Dent Clin North Am*. octubre de 2004;48(4):809-32.
41. Angiero F, Benedicenti S, Signore A, Parker S, Crippa R. Apicoectomies with the erbium laser: A complementary technique for retrograde endodontic treatment. *Photomed Laser Surg*. 2011;29(12):845-9.
42. Abu Hasna A, Pereira D, Gavlik TR, Pinto AB, Pucci CR, Lage-Marques JL. Apicoectomy of Perforated Root Canal Using Bioceramic Cement and Photodynamic Therapy. *Int J Dent*. 2020;2020:1-8.
43. Olivi G, De Moor R, Divito E. Lasers in Endodontics.
44. Betancourt P, Arnabat-Domínguez J, Viñas M. Irrigación Activada por Láser en Endodoncia Laser Activated Irrigation in Endodontics. Vol. 15, *Int. J. Odontostomat*. 2021.
45. Basrani B. Endodontic Irrigation Chemical Disinfection of the Root Canal System. Toronto: Springer; 2015. 316 p.
46. Dai T, Huang YY, Hamblin MR. Photodynamic therapy for localized infections-State of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2009;6(3):170-88.

47. Gursoy H, Ozcakil-Tomruk C, Tanalp J, Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: A literature review. *Clin Oral Investig*. 2013;17(4):1113-25.
48. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2004;1(4):279-93.
49. Krasnovsky AA. Singlet oxygen and primary mechanisms of photodynamic therapy and photodynamic diseases. 2007;17-62.
50. Asnaashari M, Ashraf H, Rahmati A, Amini N. A comparison between effect of photodynamic therapy by LED and calcium hydroxide therapy for root canal disinfection against *Enterococcus faecalis*: A randomized controlled trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;17:226-32.
51. Ferreira Alfenas C, Floriano Lopes Santos M, Naomi Moreno Takehara G, Vinícius Queiróz de Paula Professor Doutor M. *Revista Brasileira de Odontologia* Terapia fotodinâmica na redução de micro-organismos no sistema de canais radiculares Photodynamic therapy in the reduction of microorganisms in the root canal system.
52. Asnaashari M, Ashraf H, Rahmati A, Amini N. A comparison between effect of photodynamic therapy by LED and calcium hydroxide therapy for root canal disinfection against *Enterococcus faecalis*: A randomized controlled trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 1 de marzo de 2017;17:226-32.
53. Singh S, Nagpal R, Manuja N, Tyagi SP. Photodynamic therapy: An adjunct to conventional root canal disinfection strategies. *Australian Endodontic Journal*. 2015;41(2):54-71.
54. Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr Opin Microbiol*. 2016;33:67-73.
55. George S, Kishen A. Photophysical, photochemical, and photobiological characterization of methylene blue formulations for light-activated root canal disinfection. *J Biomed Opt*. 2007;12(3):034029.
56. Cieplik F, Tabenski L, Buchalla W, Maisch T. Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. *Front Microbiol*. 2014;5(405):1-17.
57. Sin JH, Walsh LJ, Figueredo CM, George R. Evaluation of effectiveness of photosensitizers used in laser endodontics disinfection: A systematic review. *Transl Biophotonics*. 2021;3(1):1-21.
58. Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;93(2):155-60.
59. Wiench R, Skaba D, Matys J, Grzech-Leśniak K. Efficacy of toluidine blue—mediated antimicrobial photodynamic therapy on candida spp. A systematic review. *Antibiotics*. 2021;10(4):1-17.

60. Balhaddad AA, AlQranei MS, Ibrahim MS, Weir MD, Martinho FC, Xu HHK, et al. Light energy dose and photosensitizer concentration are determinants of effective photo-killing against caries-related biofilms. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):1-14.
61. Shrestha A, Kishen A. Antibiofilm efficacy of photosensitizer-functionalized bioactive nanoparticles on multispecies biofilm. *J Endod.* 2014;40(10):1-7.
62. de Araújo LPP, Marchesin ARR, Gobbo LBB, da Rosa WL de OLO, Soares A de JJ, de Almeida JFAFA, et al. Tooth color change after photodynamic therapy in endodontics: A systematic review. Vol. 42, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* Elsevier B.V.; 2023.
63. Cieplik F, Deng D, Crielaard W, Buchalla W, Hellwig E, Al-Ahmad A, et al. Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't. *Crit Rev Microbiol.* 2018;44(5):571-89.
64. Pandarathodiyil AK, Anil S. Lasers and their applications in the dental practice. *Int J Dent Oral Sci.* 2020;7(11):936-43.
65. Sabino CP, Garcez AS, Núñez SC, Ribeiro MS, Hamblin MR. Real-time evaluation of two light delivery systems for photodynamic disinfection of *Candida albicans* biofilm in curved root canals. *Lasers Med Sci.* 2015;30(6):1657-65.
66. Paz-Cristobal MP, Royo D, Rezusta A, Andrés-Ciriano E, Alejandro MC, Meis JF, et al. Photodynamic fungicidal efficacy of hypericin and dimethyl methylene blue against azole-resistant *Candida albicans* strains. *Mycoses.* 2014;57(1):35-42.
67. Silva LAB, Novaes AB, De Oliveira RR, Nelson-Filho P, Santamaria M, Silva RAB. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: A histopathological evaluation. *J Endod.* 2012;38(3):360-6.
68. Garcia VG, Longo M, Gualberto Júnior EC, Bosco AF, Nagata MJH, Ervolino E, et al. Effect of the concentration of phenothiazine photosensitizers in antimicrobial photodynamic therapy on bone loss and the immune inflammatory response of induced periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2014;49(5):584-94.
69. Prażmo EJ, Godlewska RA, Mielczarek AB. Effectiveness of repeated photodynamic therapy in the elimination of intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm: an in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2017;32(3):655-61.
70. Wang Y, Li Y, Huang S, Huang J, Huang X. An easily achievable strategy to promote the penetration of methylene blue into dentinal tubules. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 1 de marzo de 2023;41.
71. Tennert C, Drews AM, Walther V, Altenburger MJ, Karygianni L, Wrbas KT, et al. Ultrasonic activation and chemical modification of photosensitizers enhances the effects of photodynamic therapy against *Enterococcus*

- faecalis root-canal isolates. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015;12(2):244-51.
72. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Ribeiro MS. Antimicrobial Effects of Photodynamic Therapy on Patients with Necrotic Pulps and Periapical Lesion. *J Endod.* 2008;34(2):138-42.
73. Garcez AS, Nuñez SC, Hamblin MR, Suzuki H, Ribeiro MS. Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: A preliminary report. *J Endod.* 2010;36(9):1463-6.
74. Fonseca MB, Tessare PO, Pallota RC, Filho HF, Denardin OVP, Rapoport A, et al. Photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg.* 1 de junio de 2008;26(3):209-13.
75. Fimple JL, Fontana CR, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis TC, et al. Photodynamic Treatment of Endodontic Polymicrobial Infection In Vitro. *J Endod.* junio de 2008;34(6):728-34.
76. Souza LC, Brito PRR, Machado de Oliveira JC, Alves FRF, Moreira EJJ, Sampaio-Filho HR, et al. Photodynamic Therapy with Two Different Photosensitizers as a Supplement to Instrumentation/Irrigation Procedures in Promoting Intracanal Reduction of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2010;36(2):292-6.

8. AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a mi tutora por su dedicación y acompañamiento. A todos mis docentes y compañeros de la Cátedra de Endodoncia por su apoyo y generosidad al compartir material tan valioso para mi monografía. Así como a mis compañeros de la especialización en Endodoncia por todos los momentos compartidos. Gracias a mi familia por ser mi gran sostén en este camino.