UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

TESIS DOCTORAL

Radiación láser en ortodoncia

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Rosa María Abellán Cabrera

Directores

Juan Carlos Palma Fernández
María Clara Gómez Hernández

Madrid

© Rosa María Abellán Cabrera, 2021

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Odontología

Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas

RADIACIÓN LÁSER EN ORTODONCIA

TESIS DOCTORAL

Memoria presentada por

Rosa María Abellán Cabrera

Para optar al grado de Doctor

Directores: Dr. Juan Carlos Palma Fernández[1] y Dr. María Clara Gómez Hernández[2]

1 Facultad de Odontología, UCM
2 Instituto de Química Física "Rocasolano", CSIC

MADRID 2021

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Odontología

Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas

RADIACIÓN LÁSER EN ORTODONCIA

TESIS DOCTORAL

Memoria presentada por

Rosa María Abellán Cabrera

Para optar al grado de Doctor

Directores: Dr. Juan Carlos Palma Fernández[1] y Dr. María Clara Gómez Hernández[2]

1 Facultad de Odontología, UCM
2 Instituto de Química Física "Rocasolano", CSIC

MADRID 2021

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por ser mi mayor ejemplo, por haberme dado todo en esta vida, por guiarme y apoyarme incondicionalmente en cada etapa. Me siento muy afortunada de trabajar a vuestro lado, no todo el mundo tiene esa suerte. Gracias, todo lo que soy os lo debo a vosotros. Os quiero.

A Juan Carlos Palma, mi gran apoyo no solo dentro de nuestra facultad si no en mi etapa en Madrid. Mi profesor y amigo. Por haber creído en mi desde el primer día y haberme impulsado a realizar este proyecto. Es un orgullo haber sido tu alumna.

A Clara Gómez, por el esfuerzo y las infinitas horas que ha dedicado a esta tesis doctoral para ayudarme a que saliera adelante.

Al Dr. Ricardo Ortega y a Miguel José Fernández-Enríquez por prestarme su ayuda desinteresada, facilitarme y enseñarme a usar sus programas para el análisis en tres dimensiones de las muestras.

A Santiago Cano, por su labor estadística.

A Ana O'Connor e Itziar González por su labor en cuanto al análisis microbiológico.

A los pacientes que han participado en este proyecto, acudiendo a sus citas y siguiendo todos los protocolos establecidos para que la investigación fuese correcta.

A mis profesores del máster, que me han enseñado todo lo que se sobre ortodoncia con tanto cariño.

A Joan y Paula por los pacientes que hemos llevado juntos, me habéis ayudado mucho.

A mis compañeros del máster, la que ha sido mi familia 3 intensos años, con ellos empecé esta aventura y con ellos la termino, Marina, Leo, Estrella y Paula.

A aquellos que habéis estado conmigo durante este camino que ha sido largo, por aguantarme especialmente los días en los que he querido tirar la toalla, que no han sido pocos y animarme siempre a seguir adelante, sin vosotros no habría llegado al final.

A mis amigas, las incondicionales, que suerte teneros, gracias a la vida por haberos puesto en mi camino, sois un tesoro. Myriam, Mar, Inma, Marina´s, María, Lucía y Alicia.

A mi abuelo Pepe y mi tía Mercedes, porque se que su ilusión por esta tesis, como por todo lo que he hecho en esta vida, es incluso mayor que la mía.

Mis últimas palabras son para Luis, mi compañero de vida, por seguir superando etapas juntos. Por sacar siempre el lado positivo de todo y hacer que las cosas sean más fáciles con un guiño y una sonrisa.

ÍNDICE

1. Abreviaturas y acrónimos 7

2. Resumen 10

3. Summary 14

4. Introducción 18

4.1 Movimiento dentario ortodóncico 18
4.2 Radiación láser y su interacción con los tejidos biológicos 33
4.3 Fotobiomodulación (FBM) 38
4.4 Nuevos métodos profilácticos: Terapia Fotodinámica (TFD) 43

5. Objetivos 52

6. Estructura de la memoria 53

CAPÍTULO 1: TFD EN ADOLESCENTES DURANTE EL TRATAMIENTO ORTODÓNCICO CON APARATOLOGÍA FIJA.

C1.1 Justificación 55
C1.2 Metodología y Resultados 55
ANEXO I 57
C1.3 Discusión 77
C1.4 Conclusiones 89

CAPÍTULO 2: FBM EN ORTODONCIA.

CAPÍTULO 2A: EFECTOS DE LA FBM EN EL ESTADO PERIODONTAL DE PACIENTES TRATADOS CON ORTODONCIA LINGUAL.

C2A.1 Justificación 91
C2A.2 Metodología y Resultados 91
ANEXO II 93
C2A.3 Discusión 101
C2A.4 Conclusiones 111

CAPÍTULO 2B: EFECTOS DE LA FBM EN EL MOVIMIENTO DE INTRUSIÓN MOLAR CON MINITORNILLOS.

C2B.1 Justificación 113
C2B.2 Metodología y Resultados 113
ANEXO III 115
C2B. 3Discusión 126
C2B. 4 Conclusiones 137

7. Conclusión general 138

8. Referencias 139

1. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ADP: Difosfato de Adenosina

ARN: Ácido Ribonucleico

ALA: Ácido 5-aminolevulínico

AM: Azul de Metileno

ATP: Adenosina Trifosfato

BL: Bioluminiscencia

CAD/CAM: *"Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacturing"*

CANX: Calnexin

CBCT: Tomografía computarizada de haz cónico (*"Cone Beam Computed Tomography"*)

CCO: Citocromo C Oxidasa

CDK5R1: *"Cyclin Dependent Kinase 5 Regulatory Subunit 1"*

CLASS: *"Custom Lingual Appliance Set-up Service"*

CO_2: Dióxido de Carbono

CUR: Curcumina

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

EGF: Factor de crecimiento epidérmico (*"Epidermal Growth Factor"*)

ERO: Especies Reactivas del Oxígeno

Er:YAG: *"Erbium-doped Yttrium Aluminium Garnet"*

Er,Cr:YSGG: "*Erbium, Chromium: Yttrium-Scandium-Gallium-Granet"*

FBM: Fotobiomodulación

FCG: Fluido Crevicular Gingival

FS: Fotosensibilizador

FGF-2 / FGF basic: Factor de Crecimiento de Fibroblastos 2/básico (*"Basic Fibroblast Growth Factor"*)

HpD: Derivado de la Hematoporfirina

HSV-1: Virus del Herpes Simple-1

ICDAS: *"International Caries Detection and Assessment System"*

IFN-γ: Interferón γ

IG: Índice Gingival

IL-1β: Interleucina 1 Beta

IL-1Ra: Interleucina 1 Receptor Antagonista *("Interleukin-1 Receptor Antagonist")*

IL-4: Interleucina 4 *("Interleukin-4")*

IL-6: Interleucina 6 *("Interleukin-6")*

IL-8: Interleucina 8 *("Interleukin-8")*

IL-10: Interleucina 10 *("Interleukin-10")*

IL-17: Interleucina 17 *("Interleukin-17")*

IP: Índice de Placa

IG: Índice gingival

IPL: Luz Pulsada Intensa

IPV: Índice de Placa Visible

ISP: Índice de Sangrado Papilar

λ: Longitud de onda

LASER: Luz amplificada por emisión estimulada de radiación **(***"Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation"*)

LED: Diodo emisor de luz ("*Light-Emitting Diode"*)

LENG5: "*Leukocyte receptor cluster member 5"*

LLLT: *"Low-Level Laser Therapy"*

LPS: Lipopolisacárido

MPG: *"N-Methylpurine DNA Glycosylase"*

NaClO: Hipoclorito de Sodio

Nd:YAG:*"Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet"*

NF-κB: Factor Nuclear Kappa Beta (*"Nuclear Factor Kappa Beta*")

NK: Célula Asesina Natural (*"Natural Killer"*)

NO: Óxido Nítrico

NIC: Nivel de Reinserción Clínico

OPG: Osteoprotegerina

PGE2 Prostaglandina E2

PS: Profundidad de sondaje

PSO: Promoción de Salud Oral

RAR: Raspado y Alisado Radicular

RANK: Receptor del Activador del Factor Nuclear Kß *("Receptor Activator of Nuclear Factor* Kß*")*

RANKL: Ligando del Receptor del Activador del Factor Nuclear Kß *("Receptor Activator for Nuclear Factor* Kß *Ligand")*

SS: Sangrado al Sondaje

STL: STereoLitography

TADs: Dispositivos de Anclaje Temporal **(***"Temporary Anchorage Devices"*)

TARG: Torque-Angulación Referencia-Guiada

TBO: Azul de Toluidina *("Toloudine Blue O")*

TC: Tomografia Computerizada

TFD: Terapia Fotodinámica

TMA: Aleación de Titanio Molibdeno

TNF-α: Factor de Necrosis Tumoral Alfa *("Tumor Necrosis Factor Alpha")*

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

US: Ultrasonidos

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular (*"Vascular Endothelial Growth Factor")*

2. RESUMEN

El trabajo de investigación desarrollado durante la presente Tesis Doctoral se ha focalizado en el estudio de la aplicación de la radiación láser en situaciones diferentes de la práctica ortodóncica. La memoria se ha dividido en dos grandes bloques; en el primero se aborda el empleo de la Terapia Fotodinámica (TFD) como medida antimicrobiana preventiva durante un tratamiento ortodóncico de larga duración, mientras que el segundo aborda el empleo de la Fotobiomodulación (FBM) en los primeros estadíos de la ortodoncia lingual y complementado al complejo tratamiento ortodóncico de intrusión molar mediada por minitornillos.

La primera parte de esta memoria está dedicada a la aplicación de la TFD para la prevención de efectos secundarios asociados al tratamiento ortodóncico de larga duración con aparatología fija. Para ello, se han evaluado y comparado in vivo los resultados clínicos, antimicrobianos e inmunoinflamatorios de la TFD frente al tratamiento común de profilaxis oral durante el tratamiento de ortodoncia, que es la limpieza dental mediante ultrasonidos (US). Durante el tratamiento de ortodoncia, especialmente en pacientes jóvenes, la condición periodontal empeora por la dificultad de acceso a todas las zonas dentarias y gingivales. Esta alteración del periodonto podría ser irreversible a nivel celular y tisular. La TFD se basa en la aplicación de un agente fotosensibilizador y su activación posterior con luz. Este fotosensibilizador, en presencia de oxígeno, interactúa con las moléculas circundantes, generando moléculas altamente citotóxicas que causan la muerte bacteriana. La TFD puede ser empleada en el campo de la odontología para la reducción y el control de los patógenos orales. Se seleccionaron 22 pacientes de entre 12 y 16 años del Máster de Ortodoncia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM), que llevaban en tratamiento ortodóncico entre 12 y 15 meses y que presentaban inflamación gingival y fueron designados al azar para ser tratados con TFD ó US, en un estudio a boca completa. Los pacientes recibieron 4 sesiones de tratamiento (TFD/US), con un intervalo de 15 días. Se registraron varios parámetros clínicos periodontales (índice de placa (IP), índice gingival (IG) y profundidad de sondaje (PS)), marcadores proinflamatorios en el fluido crevicular del surco gingival (IL-1β; IL-1ra; IL-6; IL-10; TNF-α; FGF-2/FGF basic), nueve periodontopatógenos en el surco gingival (*Agreggatibacter actinomycetemcomitans; Porphyromonas gingivalis; Prevotella intermedia; Micromonas micros; Fusobacterium nucleatum; Tannerella forsythia; Campylobacter*

rectus; Eikenella corrodens; Capnocytopaga sp.) y *Streptococcus mutans* en saliva en los meses 0, 3, 6 y 9 del tratamiento. Respecto a los parámetros clínicos (PS, IP e IG) se observaron diferencias significativas intragrupo pero no hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos. La reducción en el total de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) fue más marcada en el grupo de TFD, pero sin diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Se observó una reducción similar respecto a *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *S. mutans* en ambos grupos, sin diferencias estadísticamente significativas (p>0,05). Ambos grupos presentaron tendencias similares respecto a los mediadores de la inflamación con una disminución de IL-1β, IL-10, y TNF-α, mientras que los niveles de IL-6 y IL-1ra se mantuvieron estables y FGF-2 incrementó en ambos grupos, sin diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre grupos. Por tanto ambos procedimientos son efectivos en la prevención y tratamiento de las alteraciones que se asocian a un tratamiento prolongado de ortodoncia, desde el punto de vista clínico, microbiológico e inmunoinflamatorio, si bien, los efectos de la TFD a corto plazo tienen mayor impacto que los del US. La TFD podría por lo tanto consolidarse como una nueva alternativa terapéutica segura para el mantenimiento periodontal en pacientes tratados con aparatología fija multibrackets.

La segunda parte de esta memoria está dedicada a evaluar el efecto de la FBM aplicada en dosis repetidas en adultos con periodonto sano durante el inicio de dos tratamientos ortodóncicos diferentes: el primero, la ortodoncia lingual y el segundo, la intrusión molar asistida con minitornillos.

El posicionamiento de los brackets en la cara lingual de los dientes podría modificar la condición periodontal de los pacientes puesto que la superficie lingual es más pequeña que la vestibular, quedando los brackets más cerca de la encía y con mayor posibilidad de retención de placa lo que a su vez genera más inflamación gingival que la ortodoncia vestibular. El empleo de luz de bajo nivel energético (FBM) en los tejidos periodontales puede modular el proceso de inflamación periodontal a través de interacciones fotoquímicas y biológicas en las células. Apenas hay estudios publicados sobre las consecuencias periodontales de tratamiento de ortodoncia lingual en adultos y menos aún teniendo en cuenta inflamación y FBM. Se seleccionaron 12 pacientes de entre 28 y 46 años, del Máster de Ortodoncia de la UCM, programados para recibir un tratamiento de ortodoncia lingual. Se diseñó un estudio a boca partida donde para cada paciente, el

cuadrante 1 ó 2 fue elegido al azar para ser irradiado con un láser de diodo (λ=670nm, 190mW, 60 s/diente) (grupo Láser). En el cuadrante contralateral, la punta difusora se insertó parcialmente en el surco gingival, pero sin emisión de radiación láser (grupo Control). Antes de colocar los brackets por lingual y 1, 2, 3 y 12 meses después del inicio del tratamiento ortodóncico, se registraron los parámetros clínicos (índice de placa visible (IPV), sangrado al sondaje (SS) y profundidad de sondaje (PS)) y se tomaron muestras de fluido del surco gingival (FCG) para determinar interleucina-1 beta (IL-1β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Los resultados reflejaron un ligero empeoramiento de la condición periodontal en los dos grupos, principalmente entre el segundo y tercer mes del inicio del tratamiento ortodóncico y más evidente en el lado lingual del grupo Control. Los niveles de IL-1β en el FCG se incrementaron significativamente en el grupo Control en comparación con el grupo Láser al segundo y tercer mes de comenzar el tratamiento ortodóncico. Los niveles de TNF-α se mantuvieron constantes durante todo el estudio. La FBM evitó un elevado incremento tanto en los niveles de IL-1β en el FCG y en los valores de PS.

La extrusión de un molar en la arcada superior es un problema frecuente en adultos, causado generalmente por la ausencia del diente antagonista. Los minitornillos son una buena opción para la intrusión molar ya que hay una mínima limitación anatómica, son fáciles de colocar y retirar, tienen bajo coste y no necesitan de la colaboración del paciente. Estudios recientes muestran que la FBM complementado al tratamiento ortodóncico no solo mejora la condición periodontal, sino que acelera el movimiento ortodóncico, reduce el dolor y la inflamación asociado al tratamiento y disminuye la reabsorción radicular. Este estudio se realizó con 20 pacientes, del Máster de Ortodoncia de la UCM, que presentaban un molar superior extruido. Los pacientes fueron asignados de forma aleatoria para formar un grupo tratado con láser y otro grupo placebo control. Se colocaron dos minitornillos uno por vestibular y otro por palatino y se aplicó láser en el surco gingival del molar durante doce minutos, siete días seguidos. La intrusión se realizó mediante cadenas elásticas aplicando una fuerza de 75 g. Antes del tratamiento y cada mes se midieron los parámetros clínicos periodontales: IP, SS y PS. Antes del tratamiento y al finalizar se realizaron registros con un CBCT y un escáner intraoral para valorar la cantidad de intrusión estableciendo planos de referencia y superposiciones. Los parámetros periodontales (IP, PS y SS), así como la cantidad de intrusión o la velocidad no mostraron diferencias estadísticamente significativas

(*p*>0,05) entre los grupos. Sin embargo, el grupo de FBM mostró valores más bajos de todos estos valores durante los 3 primeros meses. Los valores obtenidos a partir de los archivos STL del escáner intraoral y de las imágenes del CBCT fueron igualmente efectivos para medir con precisión la cantidad de intrusión (*p*>0,05). Los registros obtenidos a partir de los CBCT permitieron además evaluar volumétricamente el proceso de reabsorción radicular, siendo menor en el grupo FBM, pero no significativamente (*p*>0,05). Los resultados demostraron el potencial de la FMB para mejorar el estado periodontal de las estructuras implicadas en el movimiento y ralentizar la reabsorción radicular.

En conclusión, la TFD y la FBM pueden resultar herramientas eficaces durante el desarrollo del tratamiento ortodóncico, aumentando su eficiencia al disminuir los efectos colaterales inherentes a dicho tratamiento.

3. SUMMARY

The research work developed during this Doctoral Thesis has focused on the study of the application of laser radiation in different situations in the orthodontic practice. The memory has been divided into two large blocks; in the first one we study the use of Photodynamic Therapy (PDT) as a preventive antimicrobial measure during long-term orthodontic treatment, while the second one studies the use of Photobiomodulation (PBM) in the early stages of lingual orthodontics and as a complement of the complex orthodontic treatment of molar intrusion mediated by miniscrews.

The first part of this memory is dedicated to the application of PDT for the prevention of side effects associated with long-term orthodontic treatment with fixed appliances. To do this, the clinical, antimicrobial and immuno-inflammatory results of PDT have been evaluated and compared in vivo with the common oral prophylaxis treatment during orthodontic treatment, which is dental cleaning using ultrasound (US). During orthodontic treatment, especially in young patients, the periodontal condition gets worse due to difficult access to all dental and gingival areas. This alteration of the periodontium could be irreversible at the cellular and tissue level. PDT is based on the application of a photosensitizer agent and its subsequent activation with light. This photosensitizer, in the presence of oxygen, interacts with the surrounding molecules, generating highly cytotoxic molecules that cause bacterial death.

PDT can be used in the field of dentistry for the reduction and control of oral pathogens. Twenty-two patients between 12 and 16 years of age were selected from the Master of Orthodontics at the Complutense University of Madrid (UCM), who had been in orthodontic treatment between 12 and 15 months and who presented gingival inflammation. The patients were randomly assigned to be treated with PDT or US, in a full mouth study. They received 4 treatment sessions (PDT / US), with an interval of 15 days. Several periodontal clinical parameters were recorded (plaque index (PI), gingival index (GI) and probing depth (PD)), also pro-inflammatory markers in the crevicular fluid of the gingival sulcus (IL-1β; IL-1ra; IL-6; IL-10; TNF-α; FGF-2 / FGF basic), nine periodontopathogens in the gingival sulcus (*Agreggatibacter actinomycetemcomitans; Porphyromonas gingivalis; Prevotella intermedia; Micromonas micros; Fusobacterium nucleatum; Tannerella forsythia; Campylobacter rectus; Eikenella corrodens; Capnocytopaga sp.*) and *Streptococcus mutans* in saliva at

months 0, 3, 6 and 9 of treatment. Regarding the clinical parameters (PD, PI and GI), significant intragroup differences were observed but there were no statistically significant differences between groups. The reduction in total Colony Forming Units (CFU / mL) was more marked in the PDT group, but without statistically significant differences between groups. A similar reduction was observed with respect to *P. gingivalis, P. intermedia, F. nucleatum* and *S. mutans* in both groups, without statistically significant differences ($p>0.05$). Both groups presented similar trends regarding the mediators of inflammation with a decrease in IL-1β, IL-10, and TNF-α, while the levels of IL-6 and IL-1ra remained stable and FGF-2 increased in both groups, without statistically significant differences ($p>0.05$) between groups. Therefore, both procedures are effective in the prevention and treatment of alterations associated with prolonged orthodontic treatment, from a clinical, microbiological and immunoinflammatory point of view, although the effects of PDT in the short term have a greater impact than those of the US. PDT could therefore establish itself as a new safe therapeutic alternative for periodontal maintenance in patients treated with fixed multibracket appliances.

The second part of this report is dedicated to evaluate the effect of PBM applied in repeated doses in adults with healthy periodontium during the initiation of two different orthodontic treatments: the first, lingual orthodontics, and the second, molar intrusion assisted by miniscrews.

Lingual orthodontics is a technique in which the brackets are bonded onto the lingual surface of the teeth and could modify the periodontal condition of the patients, because the lingual surface is smaller than the buccal one; therefore, the brackets take most of the space, remain closer to the gingiva, thus hindering plaque removal. That is why this treatment generates more gingival inflammation than buccal orthodontics. The use of low-energy light (PBM) in periodontal tissues can modulate the periodontal inflammation process through photochemical and biological interactions in cells. There are not many studies published about the periodontal consequences of lingual orthodontic treatment in adults and even less considering inflammation and PBM. Twelve patients between 28 and 46 years of age were selected from the Master of Orthodontics at the UCM, scheduled to receive lingual orthodontic treatment. A split-mouth study was designed, where for each patient, quadrant 1 or 2 was randomly chosen to be irradiated with a diode laser (λ = 670nm, 190mW, 60 sec/tooth) (Laser

group). In the contralateral quadrant, the light-diffusing tip, was partially inserted into the pocket, but without applying laser radiation (Control group). Before bonding the lingual orthodontics and 1, 2, 3 and 12 months after the start of orthodontic treatment, the clinical parameters (visible plaque index (VPI), bleeding on probing (BOP) and probing depth (PD)) were recorded. Also samples of gingival crevicular fluid (GCF) were taken to determine interleukin-1 beta (IL-1β) and tumor necrosis factor alpha (TNF-α). The results reflected a slight worsening of the periodontal condition in the two groups, mainly between the second and third month after the start of orthodontic treatment and more evident on the lingual side of the Control group. IL-1β levels in the GCF were significantly increased in the Control group compared to the Laser group at the second and third month after starting orthodontic treatment. TNF-α levels remained constant throughout the study. PBM avoided a high increase in both IL-1β levels in GCF and in PD values.

Super-eruption of the molars is a common problem in adult patients, generally caused by an early loss of the opposing teeth and their non-replacement. Mini-screws are a good option for molar intrusion since there is a minimal anatomical limitation, placement and removal are easy, costs are low and do not require the collaboration of the patient. Recent studies show the benefits that adjunctive PBM could have during orthodontic treatment, including the maintenance or improvement of periodontal health, reduction of pain and inflammation associated with the treatment, acceleration of orthodontic movement and decreased root resorption. This study was carried out with 20 patients, from the Master of Orthodontics at the UCM, who presented an upper molar extruded. The patients were randomly divided into two groups; one group was treated with laser and the other one as a control. Two miniscrews were placed, one in the buccal region and the other one in the palatal region, and laser was applied to the gingival sulcus of the molar for twelve minutes, seven days in a row. The intrusion was carried out by elastic chains applying a force of 75 g. Before treatment and every month, the periodontal clinical parameters were measured: PI, PD and BOP. Before treatment and at the end, records were made with a CBCT and an intraoral scanner to assess the amount of intrusion, establishing reference planes and overlays. Periodontal clinical assessments (PI, PD and BOP) and mean intrusion distance or mean intrusion velocity yielded no differences (p>0.05) between groups. However, PBM group showed lower values of all these scores during the first 3 months. Intraoral scanner and CBCT

were equally effective in accurately monitoring the intrusion distance (p>0.05). CBCT records allowed volumetric evaluation of the root resorption process, being lesser in the PBM group, but not significantly (p>0.05). The results demonstrated the potential of PMB to improve the periodontal records of the structures involved in movement and lower progression of root resorption.

In conclusion, PDT and PBM can be effective tools during the development of orthodontic treatment, increasing its efficiency by reducing the side effects inherent to the treatment.

4. INTRODUCCIÓN

4.1. Movimiento dentario ortodóncico

Bases biológicas del movimiento dentario

Siempre que el cuerpo humano o algún órgano son sometidos a un estímulo o alteración de su condición fisiológica normal se producen respuestas o reacciones adaptativas destinadas a mantener las funciones regulares del mismo. En un inicio se produce una reacción primaria que regulariza las alteraciones leves, pero a medida que aumenta la intensidad del estímulo, asociado a una mayor duración en el tiempo del mismo, la respuesta aumentará y será más duradera, modificando el normal y correcto funcionamiento fisiológico.

Durante el movimiento ortodóncico, hay un estímulo determinado conocido como fuerza, capaz de producir una seríe de respuestas. Según la intensidad de la fuerza aplicada, su dirección y duración a lo largo del tiempo, la reacción del organismo variará. Otras variables que también son consideradas importantes son la conformación estructural del hueso alveolar, las fibras periodontales y la morfología dentaria. [1] La reacción del hueso alveolar y de las fibras periodontales ha sido ampliamente estudiada durante años, logrando describirse con bastante precisión las modificaciones tisulares del ligamento periodontal, así como generar las teorías que intentan explicar dichos procesos. [2]

La aplicación de la fuerza ortodóncica también desencadena *per se*, un proceso inflamatorio transitorio sin representar una condición patológica, mediado por una gran variedad de citocinas inflamatorias. [3] Estas citocinas son liberadas generalmente por las células del sistema inmune en respuesta al estímulo producido por una variedad de agentes. Se ha descrito una gran cantidad de ellas, pero se ha determinado que dentro del proceso de reabsorción ósea intervienen fundamentalmente interleucina 1-alfa (IL-1α) e interleucina 1-beta (IL-1β) junto a los factores de necrosis tumoral (TNF-α). [4]

Se producen cambios a nivel vascular, que junto a la síntesis de prostaglandinas, citocinas y factores de crecimiento dan lugar a la remodelación de los tejidos. Durante el fenómeno de remodelación, los osteoclastos llevan a cabo una reabsorción ósea selectiva en las áreas de compresión y los osteoblastos generan hueso en las áreas de tensión, fenómeno conocido como reabsorción-aposición ósea. La reabsorción permite el desplazamiento del diente y por el contrario la aposición se encarga de formar hueso

en el lado opuesto al desplazamiento para mantener un correcto espesor periodontal. Cuando ocurren estos dos fenómenos en diferente superficies del mismo diente, el resultado final es su movimiento. [5,6]

Diferentes movimientos ortodóncicos y su repercusión en el periodonto

La extrusión dentaria mediante ortodoncia o erupción forzada, se define como el movimiento ortodóncico, en dirección coronal, a través de la aplicación de fuerzas ligeras y continuas para provocar cambios en la posición dental y en los tejidos blandos y hueso. [7] La extrusión puede ser rápida o lenta. En la primera, no se produce una adaptación de los tejidos periodontales a la fuerza de tracción y el diente migra en solitario. Es un movimiento que tiene más tendencia a la recidiva, por lo tanto requiere un tiempo de retención mayor, además de representar un elevado riesgo de anquilosis y reabsorción radicular externa. [8] En la segunda, las fuerzas de tracción son suaves y se observa una migración de los tejidos periodontales junto al diente traccionado. El tiempo de retención es menor que si se hace extrusión rápida. [9,10]

La extrusión forzada, es una buena alternativa para tratar fracturas radiculares, ya que permite conseguir unas condiciones periodontales propicias para llevar a cabo o bien la restauración protésica del resto radicular o la extracción dental post-extrusión. [11,12]

Existen otros movimientos en ortodoncia, como el movimiento de gresión, que consiste en el desplazamiento en bloque o en masa del diente, es decir, tanto de la corona como del ápice, pudiendo mantener la inclinación dental original. Este movimiento se consigue estableciendo un par de fuerzas que actúen en líneas paralelas y distribuyan la fuerza sobre toda la superficie ósea alveolar.

El movimiento de versión, consiste en el movimiento de la corona del diente mientras que el ápice permanece fijo, por lo tanto, da lugar a un cambio en la inclinación del eje dentario. Este movimiento conlleva la concentración de la presión en áreas limitadas del ligamento periodontal, si la fuerza es ligera y continua, el periodo de hialinización será corto y la corona se moverá fácilmente.

La torsión implica un movimiento del ápice sin el movimiento coronario. Se acompaña por tanto de un cambio en la inclinación axial del diente. Durante el movimiento inicial del torque, la zona de presión suele estar ubicada cerca de la región media del diente, esto ocurre porque el ligamento periodontal suele ser más ancho en el tercio apical que en el tercio medio. Tras la reabsorción de las áreas óseas correspondientes al tercio

medio, la superficie apical de la raíz comienza a comprimirse gradualmente adyacente a las fibras periodontales y se establece una zona de presión más amplia. [13,14]

La intrusión dental es el movimiento ortodóncico en dirección apical del diente. A menudo constituye una parte del tratamiento de ortodoncia para mejorar las relaciones incisivas sagitales y verticales, para corregir el ángulo interincisal, la mordida abierta, la sonrisa gingival, y restablecer el plano oclusal entre otras. [15] En general, la intrusión puede ser de un solo diente o grupos de dientes. [16]

Durante muchos años, la intrusión dental se asoció con numerosos efectos secundarios, en el periodonto y el cemento. Hay autores que defienden una posible conversión de la placa supragingival en placa subgingival por el movimiento intrusivo, desencadenando esto la destrucción de los tejidos periodontales después del tratamiento de ortodoncia. [17]

También se ha considerado un movimiento problemático y arriesgado por su alta asociación con el efecto de reabsorción radicular. Sin embargo, en los últimos años, la intrusión ortodóncica está clínicamente documentada y se considera un procedimiento seguro, siempre que la magnitud y la dirección de las fuerzas se controlen cuidadosamente. [18]

Reabsorción radicular relacionada con el movimiento de intrusión

Un objetivo común en ortodoncia ha sido la determinación de la magnitud de fuerza "óptima", que da como resultado la tasa más alta de movimiento dental con efectos secundarios iatrogénicos mínimos. [19-21] Aún así, la reabsorción radicular inflamatoria inducida por el tratamiento de ortodoncia es un riesgo indeseable que se asume al comenzar el tratamiento. [22]

Aunque las reabsorciones radiculares en su mayoría son clínicamente insignificantes, la literatura muestra que entre el 1% y el 5% de los dientes tratados con ortodoncia tienen reabsorción radicular grave, que se define como una reabsorción que excede los 4 mm o un tercio de la longitud original de la raíz. [23]

Entre los movimientos de ortodoncia, inclinación, torque, movimiento hacia vestibular o palatino, expansión maxilar etc, la intrusión especialmente, muestra un mayor riesgo de reabsorción radicular, siendo además un problema irreversible. Se ha demostrado que la intrusión dental tiene cuatro veces más posibilidades de causar reabsorción radicular que la extrusión. [24] En la intrusión, el ápice radicular y el periodonto asociado pueden experimentar una alta compresión por el estrés causado ante las fuerzas aplicadas desde la corona. La reabsorción de la raíz es un efecto secundario irreversible y por tanto el

tratamiento de intrusión debe planificarse con prudencia para evitarlo. Es siempre importante considerar algunos aspectos: la cantidad de hueso alveolar que rodea el diente sobreerupcionado, condiciones de los dientes adyacentes, salud periodontal y la cantidad requerida de intrusión.

Existen diferentes grados de severidad de reabsorción radicular. La reabsorción de las capas de cemento externas, que pueden regenerarse completamente; además de las capas externas de cemento hay reabsorción de dentina, generalmente reparada con material de cemento; y reabsorción circunferencial del ápice de la raíz, en esta etapa es cuando se hace evidente el acortamiento de la raíz e irreversible. [25]

La reabsorción radicular se debe a factores biológicos y biomecánicos. [26] Los factores mecánicos incluyen el tipo de movimiento, la magnitud, duración y tipo la fuerza, etc. Los factores biológicos son intrínsecos al paciente (morfología de las raíces, susceptibilidad genética, enfermedades sistémicas, el sexo, la edad, la ingesta de medicamentos…) [25] por ello, es fundamental identificar cómo influyen los factores biomecánicos para minimizar los riesgos y la gravedad de este fenómeno. [27]

A lo largo de los años se han realizado muchas revisiones sistemáticas y metaanálisis sobre los movimientos ortodóncicos y su repercusión en el periodonto [28,29] y la mayoría de los autores están de acuerdo en que estos fenómenos biomecánicos dependen tanto del tiempo como de la fuerza. [30,31] La dirección del movimiento del diente y el régimen de carga (fuerzas continuas vs intermitentes) también tienen un impacto considerable. [31,32]

La evaluación de la reabsorción radicular en casi todos los estudios en humanos, se ha llevado a cabo a partir de radiografías periapicales o imágenes panorámicas, en las etapas iniciales, de progreso y de finalización del tratamiento de ortodoncia, que no son lo suficientemente precisas para esta medición [33] y que no reflejan con exactitud las posición de las raíces, en especial la palatina, como resultado de las distorsiones que presenta la radiografía, debido principalmente a que el haz de rayos X no es ortogonal al diente de estudio. [34,35]

Por lo tanto, es necesario un método para visualizar con precisión la posición de las raíces en las diferentes etapas del tratamiento de ortodoncia. En los últimos años, el desarrollo y el uso de la tomografía computarizada de haz cónico (CBCT, *Cone Beam Computed Tomography*), ha permitido una visualización completa y correcta de las raíces de los dientes, en tres dimensiones. Sin embargo, una exploración CBCT utiliza una cantidad de radiación más elevada que una radiografía panorámica, por lo que no se

recomiendan múltiples exploraciones con CBCT excepto si está estrictamente indicado. [36] Algunos estudios han evaluado la reabsorción radicular mediante CBCT, pero centrándose en su mayoría en la longitud de los dientes y no en la reabsorción tridimensional. [24,37] Se sabe que un corte absoluto a través del eje longitudinal del diente es extremadamente difícil. Por lo tanto, es necesario medir cuantitativamente la reabsorción radicular usando CBCT para obtener una perspectiva 3D. Recientemente, Li y cols. han comparado el volumen de la raíz de molares intruidos a través del registro de imágenes obtenidas con un equipo CBCT antes y después del tratamiento ortodóncico. [38] La reabsorción radicular se cuantificó como la diferencia entre los volúmenes pre-intrusión y post-intrusión.

En un estudio conducido por Bilal Al-Falahi y cols., también a partir de registros obtenidos con un equipo CBCT, se midió cada ápice de la raíz, con precisión, en los tres planos del espacio, y se calculó la distancia lineal máxima entre dos puntos de referencia ubicados, uno en la punta de la cúspide mesio-vestibular del molar y otro en el ápice de la raíz. Los cambios entre las mediciones previas y posteriores a la intrusión se consideraron como los valores de reabsorción radicular. [35]

Diferentes técnicas de tratamiento ortodóncico

Técnicas fijas vestibulares

El término ortodoncia fue introducido por Defoulon en 1841, en aquel momento se comenzaron a realizar tratamientos muy rudimentarios e incómodos para los pacientes y el objetivo se enfocaba más en corregir la estética y no tanto la función. Pero no es hasta la llegada de el doctor Edward H. Angle, considerado el padre de la ortodoncia moderna, que la ortodoncia empezó a considerarse una verdadera especialidad. Angle introdujo el bracket tal y como lo conocemos a día de hoy en 1928. A lo largo de los años los brackets han sufrido modificaciones para mejorar su función, estética etc, pero basándose en el modelo inicial.

Hay diferentes tipos de brackets, según el material en el que están fabricados, los podemos encontrar metálicos o estéticos. Los metálicos probablemente sean los más conocidos por la sociedad, son los brackets que generalmente se asocian con los adolescentes. Aunque evidentemente también hay adultos que solicitan este tratamiento, por norma general estos prefieren un tratamiento más estético. Los brackets metálicos son muy efectivos ante cualquier tratamiento, su desventaja es la falta de estética. Para solucionar este problema, existen los brackets estéticos, normalmente de zafiro-

porcelana o cerámicos y también los hay de plástico, aunque el uso de estos últimos no está recomendado. Este tipo de aparatología es ideal para aquellos que buscan mayor discreción, ya que son transparentes y dejan ver el color natural de los dientes, sumado a que no se tiñen con el paso del tiempo. Aunque tienen un coste algo superior a los metálicos, proporcionan un tratamiento de ortodoncia más cómodo. Independientemente del material en el que estén fabricados, los brackets pueden ser convencionales o de autoligado.

El bracket y el arco son los componentes principales de los aparatos de ortodoncia . El bracket es la parte que va pegada al diente y el arco es el alambre que pasa por todos los brackets, ejerciendo presión o tensión sobre los dientes y provocando el movimiento dentario. Este arco puede ser de diversos materiales dependiendo de la función que se pretenda realizar con él. Para que la fuerza del arco se transmita al bracket, y de ahí al diente, hay que sujetar el arco al bracket de alguna manera. Aquí es donde aparece la gran diferencia entre brackets convencionales y de autoligado.

Los brackets convencionales necesitan de algún aditamento adicional, conocido como ligadura, para sujetar el arco, que puede ser metálica o elástica. Estas ligaduras se sitúan alrededor de la ranura del bracket para mantener unido el arco al bracket y por su composición, en concreto las elásticas, su porosidad y ubicación, retienen mucha placa bacteriana *per se* dificultando y empeorando el estado de la higiene oral. [39] Por el contrario en la técnica de autoligado, como su propio nombre indica, estas ligaduras desaparecen ya que el bracket en su manufactura incluye un clip o una pestaña que se abre y se cierra permitiendo la entrada y salida del arco sin necesidad de ningún aditamento adicional. [40]

Los brackets de autoligado se caracterizan por retener menos placa dental y facilitar la higiene oral, en comparación con los tradicionales, al no requerir el uso de ligaduras, en especial las de plástico. [41]

La razón por la cual se recomienda comenzar la mayoría de tratamientos de ortodoncia cuando ya se ha producido el recambio dentario, se debe a la suma de los efectos positivos resultantes del propio tratamiento a nivel funcional: correcta masticación, que se relaciona con la disminución de las patologías asociadas a maloclusiones, mayor facilidad para mantener una buena higiene oral, lo que va ligado a una mejor salud periodontal, así como los beneficios psicosociales y mejora de la aceptación personal, siendo este último factor muy importante en la adolescencia. [42]

Es muy frecuente que durante un tratamiento de ortodoncia prolongado con aparatología fija multibrackets, la condición periodontal empeore, especialmente en adolescentes, debido a la dificultad incrementada de lograr un buen cepillado por ser más complicado el acceso a algunas zonas dentarías y gingivales, y al hecho de que por su estilo de vida el cepillado es menos frecuente. [43] Todo ello puede provocar una alteración del periodonto, si no es controlada, no solo dificulta el movimiento dentario, sino que puede producir problemas periodontales a nivel celular y tisular e inflamación gingival. [44]

Al no encontrarse la superficie del diente libre para que se pueda llevar a cabo la autoclisis, este tipo de sistemas promueve un aumento y alteración de la microbiota subgingival: aumento de la carga bacteriana total, incluidas las espiroquetas, las bacterias fusiformes, bacilos y especies anaerobias gramnegativas concomitantes con una reducción en las bacterias gram positivas aeróbicas. [45-48] Este hecho se asocia con una predisposición a desarrollar gingivitis y a incrementar los valores de los índices clínicos periodontales de profundidad de sondaje (PS) y sangrado al sondaje (SS) durante el tratamiento ortodóncico. La cantidad de biofilm en la superficie se relaciona significativamente con la gingivitis, y cuanto mayor es la acumulación de biopelícula, mayor es el índice de sangrado gingival. [49,50]

Este tipo de tratamiento ortodóncico también aumenta el riesgo de desarrollar mancha blanca ya que dificulta en gran medida la higiene oral, hecho que se suma a que los pacientes jóvenes siguen una dieta alta en azúcar y grasas, lo cual predispone a un empeoramiento del estado de la cavidad oral. [51,52]

Ante este problema y considerando los brackets de ortodoncia como parte de su etiología, es interesante conocer que aparatos de ortodoncia tienen la posibilidad de causar menos formación de placa.

El diseño del bracket influye en la posible alteración de los parámetros periodontales. [53] Se ha demostrado que los brackets de autoligado retienen menos placa bacteriana que los convencionales. [54,55] Además, la retención de placa también se ve afectada por la rugosidad de la superficie del aparato y el tipo de ligaduras utilizadas. Las ligaduras elásticas muestran una mayor retención de la placa que los brackets de autoligado. [56] Por el contrario, los brackets cerámicos presentan menos acumulación de biopelículas, a largo plazo, que los brackets metálicos. [57]

Un mantenimiento óptimo de la salud bucal durante el tratamiento de ortodoncia es fundamental para evitar el incremento de placa durante el tratamiento con estas técnicas ortodóncicas. [58] El paciente durante el tratamiento debe ser consciente de su papel en la

prevención de complicaciones gingivales y su motivación para llevar a cabo un control de placa satisfactorio en la vida diaria ha de ser reevaluado por el profesional en cada cita. El higienista dental debe estar involucrado no solo en realizar la limpieza con ultrasonidos, sino también en dar unas instrucciones exhaustivas y motivación en términos de rutina de higiene bucal en el hogar del paciente. [59]

En cada sesión de mantenimiento, el higienista realiza una limpieza profiláctica profesional consistente en la eliminación de los depósitos de sarro presentes y un pulido utilizando una copa de goma combinada con pasta de pulido. [59] El ortodoncista, a su vez, debe proporcionar también motivación y educación de higiene bucal al paciente, e insistir en la importancia de su buen cumplimiento durante todo el tratamiento.

Técnicas fijas linguales

La ortodoncia lingual, también llamada ortodoncia invisible, es una técnica que surgió en la década de 1980 para satisfacer las necesidades estéticas de los pacientes, que eran reacios a realizarse un tratamiento de ortodoncia por el efecto antiestético que para ellos implicaba el uso de los aparatos de ortodoncia convencional vestibular. [60] Esta técnica permite realizar el tratamiento de ortodoncia sin que los brackets se perciban externamente, ya que se colocan en la zona lingual y palatina de los dientes, de modo que la superficie vestibular quedan completamente libre. Actualmente es el método de ortodoncia más discreto del mercado e igual de efectivo que otras técnicas. La ortodoncia lingual está indicada para corregir todo tipo de maloclusiones: apiñamiento, mordida abierta, mordida cruzada, sobremordida, etc.

Al encontrarse los brackets situados en la cara lingual de los dientes, cualquier tipo de desmineralización o mancha blanca que se pueda desarrollar a lo largo del tratamiento, no alteraría la estética de la sonrisa ya que no se vería externamente. [61] Hay autores que defienden que ante determinados casos en los que los pacientes presentan descalcificaciones de esmalte previas al tratamiento, la elección de esta técnica evitaría su aumento. [62]

Durante mucho tiempo se ha intentado realizar ortodoncia "invisible", sin embargo hasta 1975 no nació la ortodoncia lingual como tal. Aproximadamente en esa fecha, el Dr. Craven Kurz decidió colocar, en la cara lingual de los dientes, unos brackets metálicos modificados. [63] Con el paso de los años y un aumento de su uso, la técnica fue mejorando para ir solucionando los problemas que surgían en los pacientes, como irritación de la lengua y contactos oclusales inadecuados. Fue en este momento cuando

el depósito dental de ortodoncia (Ormco) se interesó en este concepto, y se alió con Kurz para desarrollar y mejorar esta propuesta. Más o menos a la vez, un investigador japonés, Kinya Fujita,[64] describió una técnica desarrollada con el mismo fin, usando alambres en forma de "seta". Con su aportación quedó prácticamente demostrado que la técnica lingual era (y es) una herramienta útil para el tratamiento de ortodoncia.

En los años 80/90 se comenzó con el cementado indirecto y el posicionamiento de los brackets en modelos de set-up ideal. A día de hoy, con todos los avances tecnológicos, la mejora a nivel de fabricación, ha hecho posible que los brackets sean más cómodos para el paciente y los arcos más precisos e individualizados. Con el tiempo, a su vez, se han ido perfeccionando todos los pasos que requiere esta técnica, [65] como la construcción del set-up ideal en los modelos, la utilización de brackets individualizados y no estándar, la evolución en el posicionamiento de los brackets en el modelo desde los sistemas: TARG (Torque-Angulación Referencia-Guiada), hasta llegar al computerizado TOP SERVICE, la fabricación de cubetas individualizadas para el posicionamiento de los brackets en la arcada como los sistemas CLASS o la Técnica HIRO y la utilización de arcos personalizados a la arcada de cada paciente.

Diferentes clínicos tanto en Asiáticos como Europeos, Takemoto o Scuzzo,[66] han mejorado el sistema inicial de la técnica lingual. Respecto a los brackets han realizado diferentes modificaciones,[67] la ranura utilizada es de 0,018" x 0,025", además son más estrechos, permitiendo que la distancia inter-bracket sea mayor, con bases más amplias y un perfil bajo que aumente la comodidad del paciente[68] y disminuya la distancia del arco a la cara lingual del diente. El cementado indirecto con composite en boca del paciente deja paso al sistema de cementado indirecto con Sondhi™ o Maximum Cure™. Aparecen los arcos de Nitinol y de TMA, estos comienzan a fabricarse en el laboratorio, pudiendo ser modelados robóticamente y contener las dobleces de forma preestablecida.

El desarrollo de la tecnología, ha permitido además, unir diferentes aplicaciones como son el escaneado óptico de los modelos y la tecnología CAD/CAM.[69] De esta manera, se consigue un planteamiento más exacto del cementado y posicionamiento de los brackets que repercutirá en un acabado mejor y más sencillo del caso. A partir del escáner 3D de y del set-up del modelo ideal, se diseñan y posicionan los brackets con exactitud en el modelo escaneado, posteriormente se fabrican y se cementan en los modelos de la maloclusión inicial y desde esa posición se construye la férula de transferencia. Los brackets Incognito™, son el primer sistema de brackets totalmente

individualizado. Su base metálica, colada en oro y de perfil bajo está diseñada según la anatomía y morfología del diente consiguiendo incorporar en la manufactura del bracket las correcciones de 2º y 3º orden. Los recementados pueden realizarse de forma directa, debido al buen ajuste de la base del bracket en la cara lingual del diente, evitando el uso de cubetas de transferencia. Poseen una ranura vertical que simplifica la inserción del arco en la misma. Los arcos, al ser individualizados, contienen la información de las dobleces y los torques prescritos cuando son necesarios, siendo fabricados desde la plantilla virtual, buscando una excelencia en el acabado. La individualización es muy importante en esta técnica, permitiendo un mejor ajuste del bracket lo cual asegura una alta comodidad, evita rozaduras, alteraciones en el habla y en la masticación.

Esta técnica también presenta algunos inconvenientes: los brackets se ubican en la cara lingual y al ser esta superficie más pequeña anatómicamente que la vestibular, pueden alterar la condición periodontal del paciente, ya que quedan posicionados muy cerca de la encía, ocupando casi la totalidad de la superficie lingual. Esta situación no solo dificulta el cepillado, si no que favorece la retención de restos alimenticios entre la encía y el bracket, sobre todo al inicio del tratamiento, cuando el paciente no tiene ni la habilidad ni una rutina de higiene oral más compleja, lo que puede generar una inflamación gingival elevada y favorecer el desarrollo de una enfermedad periodontal. A medida que avanza el tratamiento, el problema tiende a solucionarse porque el paciente adquiere ciertos hábitos y pericia para conseguir una mejor higiene oral. [70,71]

Señalar también, que el periodo de adaptación del paciente es más largo con ortodoncia lingual que en el resto de los tratamientos de ortodoncia, siendo de aproximadamente unas dos o tres semanas, incluso un mes. Al estar los brackets situados en la superficie lingual de los dientes, el roce con la lengua es inevitable, además de que producen una invasión del espacio habitual de la lengua para realizar sus movimientos. Esto provoca, que al menos al inicio del tratamiento, los pacientes presenten heridas en diferentes zonas de la superficie lingual. A su vez, esto interfiere en el habla. Al hablar la lengua ejerce una serie de movimientos y apoyos contra los dientes para pronunciar determinadas letras, que al contactar con los brackets resultan complicados. Actualmente existen brackets linguales de autoligado, de diferentes casas comerciales, que buscan disminuir el acúmulo de placa y favorecer la higiene oral frente a las técnicas convencionales, así como conseguir reducir la fricción durante el movimiento dental y que los tratamientos sean más suaves. No es que la técnica lingual sea más

dolorosa que la vestibular, simplemente presenta algunos inconvenientes, que los pacientes asumen dando prioridad a la estética. [62]

Alineadores

En 1999 se introdujo en el mercado una nueva técnica de ortodoncia basada en alineadores transparentes. Actualmente es una de las técnicas más utilizadas ya que ha venido a solucionar algunos de los problemas que presenta la aparatología fija. A día de hoy es el método de ortodoncia que permite una mejor higiene oral, ya que los alineadores se quitan antes de comer, quedando los dientes completamente libres y sin áreas retentivas, sumado a que a la hora de llevar a cabo la higiene oral, las superficies dentales se encuentran completamente libres, permitiendo un correcto cepillado y un control más exhaustivo de la placa. [72] Además los alineadores se lavan de manera independiente y fuera de la boca, permitiendo que una vez que se vuelvan a colocar tanto el aparato como los dientes se encuentran libres de placa en todas sus superficies. Esto hace que la higiene se pueda realizar exactamente igual que si los pacientes no se estuviesen sometiendo a un tratamiento de ortodoncia. [73]

Los alineadores presentan ciertas limitaciones a la hora de realizar los tratamientos, por lo tanto su uso no está justificado en todos los casos. Dependen en gran medida de la colaboración por parte del paciente en cuanto al número de horas de uso para que el éxito del tratamiento sea tal cual se ha planificado. Ciertos movimientos dentales son menos predecibles con esta técnica, como es el control radicular, los movimientos de extrusión y el cierre de espacios, es por esto que en muchas ocasiones se requiere de la utilización de alguna técnica auxiliar como pueden ser los brackets, botones o microtornillos para conseguir realizar determinados movimientos. [74]

Dispositivos de anclaje óseo temporal

Actualmente, los sistemas de anclaje ortodóncico osteointegrados, conocidos como minitornillos, miniimplantes o dispositivos de anclaje temporal (TADs; *temporary anchorage devices*), son considerados de gran utilidad para el movimiento dental, siendo una técnica mínimamente invasiva. [75]

De todos los dispositivos de anclaje esquelético desarrollados, estos minitornillos, como su nombre indica, son los más pequeños del mercado, aportando por tanto grandes ventajas. Tienen una mínima limitación anatómica, son muy fáciles de colocar, ya que

su pequeño tamaño permite su correcta inserción en cualquier zona de la cavidad oral, sin implicar riesgos elevados para los elementos de su alrededor, como pueden ser vasos, nervios y raíces dentarias. Para su colocación lo único que se necesita es una radiografía para ver si hay espacio suficiente y apropiado para su inserción y proceder a anestesiar la zona donde se decida ubicarlo. La extracción de los minitornillos al finalizar el tratamiento es sencilla, se pueden retirar en la mayoría de los casos sin anestesia, sin aparición de cicatrices y garantizando una rápida cicatrización.

Los costes son reducidos y no necesitan colaboración por parte del paciente para que el movimiento se realice correctamente. A esto se suma que tienen una alta capacidad estética ya que no implican la colocación de gran cantidad de elementos adicionales en la cavidad oral.

Otra de sus ventajas, es que a día de hoy, tienen la capacidad de recibir carga inmediata, es decir, desde el momento de su colocación se pueden cargar funcionalmente, empezar a recibir fuerzas, sin esperar un tiempo a que se integren en el hueso y sin necesidad de una fase de cicatrización. Estudios recientes demuestran que una carga inmediata favorece el contacto con el hueso adyacente y fomenta la calidad del anclaje, pudiéndose emplear una amplio rango de valores de magnitud de la fuerza aplicada (desde 50 hasta 300 g). [76]

A veces, los minitornillos pueden fracasar, aflojándose, empezando a moverse e incluso saliéndose de manera espontánea del sitio donde estaba colocado. El material utilizado en su fabricación no influye en su tasa de éxito, pero sí por ejemplo su longitud (a mayor longitud menor fracaso). También pueden influir varios factores como la magnitud de la fuerza aplicada, la calidad y cantidad ósea del lugar de inserción, la proximidad de la raíz del diente, la pericia del profesional al colocarlo e higiene del paciente. [77,78]

Dentro de los condicionantes anatómicos, existen diferencias entre partes blandas y duras. En las zonas blandas se debe evitar las zonas de encía libre. La exposición de implantes en zonas de mucosa queratinizada, tiene una mayor supervivencia que aquellos colocados en tejidos no queratinizados. [79]

Pueden ser situados en áreas donde el anclaje natural o aplicaciones ortodóncicas convencionales son impracticables, incluyendo espacios edéntulos en el alveolo de cualquiera de las arcadas, el paladar, el hueso zigomático, las zonas retromolares y las ramas. [80]

Con los minitornillos no hay necesidad de tener dientes como anclaje ya que el movimiento de los dientes se realiza perfectamente, incluso si hay ausencia de algunos de ellos. Por lo tanto, esta técnica lleva a otro nivel la ortodoncia, permitiendo conseguir soluciones biomecánicas, tratamientos a corto plazo y movimientos exactos y efectivos con alta biocompatibilidad.

Presentan diferentes diseños, formas y medidas que varían de acuerdo con la marca comercial. Según su composición, los hay que se fabrican de titanio, que son los más utilizados, de acero o de láctico-glicólico. Su diámetro puede variar de 1,2 a 2,5 mm y una longitud de 5 a 14 mm y pueden ser retirados en cualquier momento por parte del ortodoncista o cuando el paciente desee. [81] Debido a su pequeño tamaño, permiten una higiene oral correcta.

La mayoría de los minitornillos para ortodoncia se componen de: cabeza, cuello y porción roscante. Tras su colocación, la cabeza es la zona que queda visible e idealmente debe permitir anclar el arco a ella para realizar todo tipo de fuerzas. Existen varios tipos de cabeza que permiten la perfecta solución para cada caso de ortodoncia. A continuación, un cuello intramucoso con mayor o menor angulación para proteger la encía. La última porción endoósea, con espiras, es la porción roscante, se trata de una punta autoperforante y autoroscante para asegurar una fácil y segura inserción en el hueso de manera transmucosa, es decir, sin necesidad de una preparación previa del lecho óseo, evitando una perforación preliminar, a través de la encía y de la superficie cortical. [82] Ciertos artículos aseguran que incluso no es necesaria la infiltración anestésica y se pueden insertar los tornillos con anestesia tópica. [83]

Según el tipo de anclaje o inserción, los microtornillos pueden ser monocorticales, cuando atraviesan una sola cortical, la vestibular o la lingual, sin llegar a atravesar todo el alveolo, o bicorticales, el microtornillo atraviesa ambas corticales. Se debe considerar el uso de estos últimos cuando se espera un aumento de la carga ortodóncica o una disminución del hueso cortical. Proporcionan mayor resistencia a la deflexión, mayor estabilidad y menor estrés cortical que los monocorticales. [84]

Las complicaciones con el uso de minitornillos son raras y pueden clasificarse en tres grupos: complicaciones durante la inserción, durante el período de carga y durante la remoción. [85,86] Durante la inserción puede ocurrir una falta de estabilidad causada por un grosor de las corticales óseas inadecuado, insertar de manera incorrecta el minitornillo en el ligamento periodontal o perforar la raíz del diente. Ante esta situación los minitornillos deben ser retirados y colocados en una nueva localización.

Generalmente, el daño a las raíces no afecta el pronóstico del diente a largo plazo. Durante el período de carga puede inflamarse la zona adyacente al minitornillo, por eso es fundamental que el paciente sea muy meticuloso con su higiene oral, para mantener los tejidos blandos libres de inflamación, lo cual es esencial para su preservación y función exitosa. Así mismo puede desarrollarse una hipertrofia en la mucosa adyacente al tornillo. La irritación de la mucosa se minimiza si los minitornillos son insertados en la encía adherida. Si por razones anatómicas deben ser insertados a través de la mucosa alveolar, se debe colocar un alambre de ligadura que pase a través de la mucosa, desde el cual se pueda llevar a cabo la biomecánica ortodóncica necesaria. Durante la remoción no suele haber complicaciones, en rarísimas ocasiones puede tener lugar la fractura del minitornillo, en este caso puede ser necesaria la realización de un pequeño colgajo y osteotomía para retirar la parte final del tornillo. [87]

No hay unas contraindicaciones específicas en el uso de esta técnica, se incluirían en este grupo pacientes no idóneos para un tratamiento quirúrgico general. Personas con neoplasias de los maxilares. Sujetos que se encuentran recibiendo radioterapia. Personas con volumen óseo insuficiente. Pacientes poco colaboradores, con mala higiene oral e incapacidad para recibir y seguir instrucciones e individuos con patologías periodontales.

Tratamiento de molares sobreerupcionados

La sobreerupción de los molares definitivos es un problema común en pacientes adultos, generalmente causada por una temprana pérdida de los dientes antagonistas. El molar, al no encontrar un contacto con su diente antagonista, erupciona hasta encontrar el primer contacto que lo frene, bien sea un diente o bien la encía de la arcada opuesta. Los dientes sobreerupcionados a menudo dificultan o imposibilitan el tratamiento prostodóntico, generan interferencias oclusales, trastornos funcionales, alteración del plano oclusal y comprometen la salud periodontal. [88]

Tradicionalmente, los tratamientos utilizados para corregir el molar sobreerupcionado incluyen la reducción coronal, la cirugía de impactación, extracción del diente severamente extruido y tratamiento de ortodoncia para intruir el diente supra erupcionado.

La reducción coronal por tallado es la manera más simple, rápida de corregir esta alteración. Permite solucionar el problema y poder colocar el diente antagonista sin largas esperas para que el paciente pueda masticar, con el inconveniente de que al estar

eliminando una gran cantidad de esmalte, a menudo requiere un tratamiento de endodoncia asociado ya que se produce una afectación pulpar, con las molestias de dolor que ello supone, sumado a una cirugía periodontal y restauración protésica de la corona. [89,90]

La cirugía de impactación y la extracción dental son técnicas que en general no se utilizan a menos que esté claramente indicado, por ejemplo, cuando el molar se encuentra en unas condiciones de reducida viabilidad y su indicación sea extraerlo.

Para evitar esta problemática, existe una alternativa con un enfoque más conservador que es la intrusión ortodóncica. Este tratamiento siempre ha supuesto un reto para los ortodoncistas ya que la intrusión es uno de los movimientos más difíciles de lograr durante el tratamiento de ortodoncia. [90] Esto se debe principalmente al mayor volumen de la raíz de los molares. [91] La intrusión pura solo se puede lograr cuando se cuenta con un anclaje adecuado capaz de soportar fuerzas ligeras y continuas que se dirigen a través del centro de resistencia del diente. En un elevado porcentaje los artículos publicados, se ha visto que las fuerzas recomendadas para el movimiento de intrusión varían entre 100 y 200 g, siendo 150 g [92-95] la fuerza elegida en la mayoría de ocasiones por los autores, ya que con esta fuerza se consigue una intrusión adecuada, minimizando los posibles efectos secundarios de este movimiento sobre los dientes a intruir y adyacentes. Es por tanto que el movimiento de intrusión según la literatura, resulta seguro desde el punto de vista periodontal, siempre y cuando sea controlado, las visitas estén correctamente protocolizadas, los movimientos se realicen con las fuerzas adecuadas y el paciente sea colaborador respecto a los hábitos de higiene oral. El tratamiento de ortodoncia fija convencional implica la colocación de un aparato en toda la arcada, lo cual supone un inconveniente para muchos adultos que son reacios a ello y más aún, si su única finalidad es la intrusión del diente extruido, que además, en la mayoría de ocasiones, es un molar, que se encuentra situado en la zona más interna de la cavidad oral, sin comprometer para nada la estética de la sonrisa. En ocasiones y si el paciente presenta una maloclusión, estaría justificada la colocación de ortodoncia en toda la arcada. [96]

Los mini-implantes están especialmente indicados para la intrusión de dientes por la dificultad de hacerlo con fuerzas ortodóncicas y por proporcionar un anclaje vertical fijo. [97] Los implantes "minitornillo" como hemos expuesto anteriormente permiten aplicar fuerzas ligeras continuas mientras tiene lugar la intrusión, lo que podría disminuir la reabsorción radicular apical durante el tratamiento de intrusión activa. [27]

La principal consideración mecánica es la de colocar los minitornillos en encía adherida y por encima del centro de resistencia para producir la intrusión de los molares.
Los minitornillos dan la posibilidad de realizar un anclaje directo o indirecto. En el método directo, el tornillo se conecta directamente al diente objetivo usando elásticos y / o un resortes para realizar la fuerza intrusiva. En el anclaje indirecto se conecta el minitornillo a un diente adyacente, que actúa de manera similar a un diente anquilosado. El diente conectado al minitornillo proporciona un anclaje fuerte y estable, de modo que la intrusión se puede realizar simultáneamente. La unión del minitornillo al diente se realiza mediante un segmento intermedio que va anclado a cada uno de ellos.[88] Para realizar este segmento, se pueden emplear los distintos elementos habituales de cualquier tratamiento de ortodoncia: alambre redondo, alambre cuadrado, muelles y gomas elásticas, etc. De modo que se puede realizar el tratamiento más conveniente para cada paciente.

4.2. Radiación láser y su interacción con los tejidos biológicos.

El término láser significa Luz Amplificada por Emisión Estimulada de Radiación (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, LASER).
Los motivos que han llevado a su aplicación en medicina, bien reemplazando otra instrumentación científica o como única herramienta se basan en tres características importantes: es una emisión colimada (unidireccional, el diámetro de haz se incrementa muy lentamente con la distancia) ello implica el que sea más fácil transportar la energía a través de sistemas ópticos pequeños, como espejos de miniatura y aplicar la energía en modo no-contacto. Además, permite un eficiente acoplamiento en pequeñas fibras ópticas, proporcionando su transporte a cualquier parte del cuerpo humano.
Es monocromática (todos los trenes de onda tienen la misma longitud de onda, frecuencia y energía). Decir que la naturaleza monocromática de la luz puede dirigirse sobre cromóforos específicos en el tejido permitiendo así tanto la selectividad como una distribución homogénea en un amplio volumen.
La tercera característica es su coherencia (todos los trenes de onda están en fase tanto temporal como espacial). Coherencia espectral que determina su monocromaticidad y su coherencia espacial determina su unidireccionalidad. Cada una de estas características puede alcanzarse con otras fuentes de luz, pero es el láser la única fuente que combina todas estas características simultáneamente.

La acción resultante de la interacción de la radiación láser con el tejido biológico depende principalmente de los parámetros de la radiación láser aplicados (longitud de onda, duración del pulso, tiempo de exposición, energía aplicada, tamaño del spot, densidad energética). Hay que considerar también las propiedades del tejido, las cuales tienen una influencia decisiva. De esta forma, las propiedades ópticas del tejido (reflexión, absorción, transmisión y dispersión), determinan la distribución de la luz láser en el volumen terapéutico. Las propiedades térmicas (conductividad del calor y capacidad calorífica) determinan la disipación y el almacenamiento de la energía térmica de la radiación láser en el tejido irradiado. Finalmente, la profundidad de penetración puede estimarse en función del coeficiente de absorción y el coeficiente de dispersión.

El tiempo de exposición de la radiación láser junto con su densidad de potencia, determina un particular mecanismo de interacción con el tejido. Existen cinco mecanismos de interacción: fotoquímico, térmico, fotoablativo, ablación inducida por plasma y fotodisrupción (Figura 1). Existe la posibilidad de efectos térmicos durante la interacción fotoquímica o que láseres que operan en el rango de los picosegundos produzcan un aumento de la temperatura cuando se aplican a velocidades de repetición superiores a 10-20 Hz. Estos dos ejemplos, revelan la necesidad de una mayor comprensión de la interacción de cada láser con el tejido biológico, hecho agravado por la inhomogeneidad de la mayoría de los tejidos.

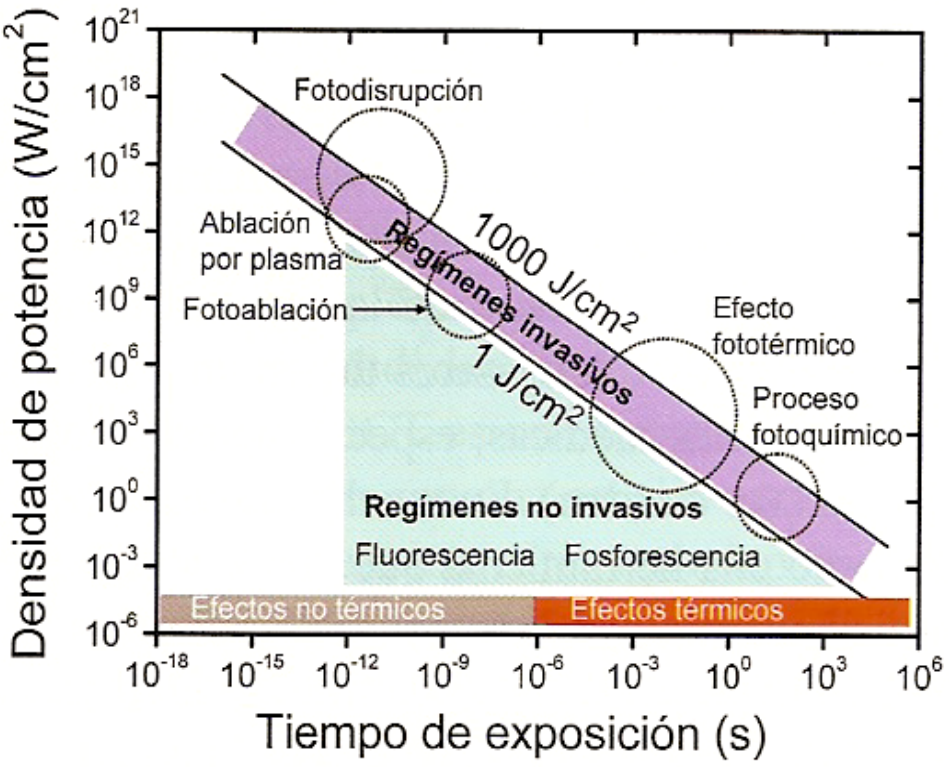

Figura 1.- Diferentes tipos de interacción de la radiación láser con el tejido biológico.

Con los últimos avances científico-tecnológicos y el desarrollo de una amplia gama de longitudes de onda láser, los investigadores sugieren que la radiación láser podría aplicarse en la mayor parte de las disciplinas médicas. En concreto, en odontología, se han estudiado en el campo conservador, [98,99] quirúrgico [100] y periodontal. [101,102]

Láseres en odontología conservadora

En el campo de la odontología conservadora, la técnica común para eliminar el tejido cariado y preparar la cavidad para realizar la obturación, es el uso de una fresa rotativa. La técnica es rápida y fácil de usar, pero presenta varios inconvenientes, como el riesgo de eliminar tejido dental sano, la vibración y el ruido, lo que puede provocar molestias y dolor para el paciente y posteriormente el desarrollo de miedo o fobia a acudir al dentista. [103,104] Las desventajas de usar la fresa han llevado a la búsqueda de métodos alternativos para eliminar el tejido cariado, incluyendo por ejemplo fresas plásticas y cerámicas, abrasión por aire y la aplicación de radiación láser. [105]

Las longitudes de onda de emisión de los sistemas laser de Er:YAG (λ=2.940 nm) y de Er,Cr:YSGG (λ=2.780 nm) permiten que sean bien absorbidas por los tejidos duros

dentarios (esmalte, dentina, cemento y hueso), así como por el agua presente en los tejidos blandos, siendo ambos sistemas capaces de eliminar caries y preparar cavidades [103,106] Para favorecer la ablación del esmalte y la dentina y evitar el efecto térmico sobre la superficie irradiada, se utiliza un spray de agua, minimizando de esta forma el riesgo de producir lesiones térmicas en la pulpa. [107] Estudios comparativos entre la fresa rotativa y la radiación láser de Er:YAG, demuestran que aunque éste último requiere más tiempo, es preferido por los pacientes, y la calidad o supervivencia de las restauraciones es similar durante un periodo de dos años. [103] Finalmente, estos dos sistemas láser permiten eliminar composites, ionómeros, silicatos, óxido de zinc y resinas compuestas. [108,109]

Láseres en odontología quirúrgica

El láser de CO_2 con una longitud de onda comprendida entre 9.400 -10.600 nm, destaca por sus aplicaciones en el ámbito de la cirugía bucal, especialmente en la cirugía de los tejidos blandos. Su efecto tisular se produce por la generación de calor. Este calor puede dar como resultado un ligero aumento de la temperatura o bien la carbonización, fusión o vaporización del material irradiado. [110] Esta radiación láser es totalmente absorbida por el agua, incluso en tejidos de poco espesor. [111] Una evaporación del agua, seguida de una desnaturalización celular y por tanto, de un efecto de corte tiene lugar cuando un haz de luz láser de CO_2 incide sobre el tejido hidratado. Es por esta elevada absorción por parte del agua que el láser de CO_2 es poco penetrante en los tejidos blandos bucales. Este sistema láser se usa sin contacto con el tejido para cortar, reduciendo el sangrado en el área de operación, lo que mejora la visión general del campo. En comparación con la cicatrización de heridas después de una incisión con bisturí y con el láser de CO_2, este último es capaz de generar una neovascularización y reepitelización de los tejidos, mejorando considerablemente la cicatrización de los mismos. [110]

Láseres en odontología con efecto descontaminante de los tejidos blandos

Numerosos estudios avalan el empleo de la radiación fundamental de Nd:YAG (λ=1.064 nm) en el tratamiento de endodoncia para la desinfección del conducto radicular, que en estos casos, presenta contaminación bacteriana, principal factor desencadenante de las lesiones pulpares y periapicales. [112] Durante la preparación del conducto radicular, la instrumentación produce una capa de desechos orgánicos y minerales llamada capa de frotis que no puede eliminarse completamente mediante

irrigación con hipoclorito de sodio (NaClO) o alguna otra solución (EDTA, clorhexidina, ácido cítrico, hidróxido de calcio, agua destilada). [113] Conseguir eliminar la capa de frotis es importante para evitar el desarrollo de un proceso inflamatorio, un foco de infección y el fracaso de la endodoncia. Se ha demostrado una reducción significativamente mayor en la reinfección de los conductos radiculares tras modificar la capa de frotis con la aplicación del láser Nd:YAG, frente a una solución de EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). [114] Además, la radiación láser de Nd:YAG tiene la ventaja de no producir efectos adversos como toxicidad, mal sabor y olor desagradable, que si producen las soluciones de riego. [115] Incluso se ha demostrado también, que se necesita una sola sesión de láser Nd:YAG para eliminar la misma cantidad de endotoxina que el hidróxido de calcio es capaz de lograr en siete días. [116]

La radiación láser de Nd:YAG también ha mostrado su utilidad en el tratamiento periodontal no quirúrgico, mejorando los parámetros clínicos y las bolsas periodontales, por su capacidad bactericida y desintoxicante. [117,118] Dicha radiación puede erradicar los periodontopatógenos atrapados dentro de las células epiteliales gingivales. Además, el tratamiento de raspado y alisado radicular (RAR) junto a la aplicación de láser de Nd:YAG, consigue una disminución significativamente mayor del índice gingival (IG) y de la profundidad de sondaje (PS), en comparación con el tratamiento de RAR aplicado en exclusividad. [119] En la periodontitis crónica, la radiación fundamental del láser de Nd:YAG promueve la regeneración periodontal. [120] Se ha visto también su efectividad al aplicarlo en periimplantitis, ya que es capaz de limpiar significativamente las superficies contaminadas del implante. [101,102]

El láser de diodo de alta potencia presenta un importante efecto hemostático, bactericida y desintoxicante, [121,122] y representa junto con el láser de Nd:YAG una tecnología valiosa en endodoncia, periodoncia e implantología. El láser de diodo está constituido por un medio activo sólido, formado por un semiconductor que frecuentemente usa una combinación de galio, arsenio y otros elementos como el aluminio o el indio para transformar la energía eléctrica en energía luminosa. Las longitudes de onda más comunes empleadas en odontología con láseres de diodo de alta potencia son 800 nm y 980 nm. Se recomienda este tipo de láser como coadyuvante en el tratamiento de endodoncia, porque su longitud de onda está dentro del rango infrarrojo y sus fibras finas y flexibles ayudan a eliminar la capa de frotis. [123]

En el tratamiento de la periodontitis crónica y de la periodontitis agresiva también ofrece buenos resultados cuando se combina con el tratamiento convencional de raspado

y aliado radicular [124,125] El hecho probado del efecto inhibitorio del láser de diodo sobre el crecimiento de las bacterias presentes en las bolsas periodontales, fundamenta su indicación en el tratamiento de la periimplantitis. [126]

Láseres en odontología con efecto fotobiomodulador

Los láseres de diodo aplicados en regímenes de baja potencia se caracterizan por efectos analgésicos, cicatrizantes y anti-inflamatorios. [127,128] La terapia con láser de bajo nivel energético (low-level laser therapy, LLLT), actualmente denominada "Fotobiomodulación" (FBM), se caracteriza por emplear radiación con una energía lo suficientemente baja como para no ejercer un efecto térmico sobre los tejidos sobre los que actúa y si ejercer una acción fotoquímica tras su absorción por moléculas diana, desencadenando procesos biomodulatorios del metabolismo celular. Se ha demostrado en una gran cantidad de estudios que la FBM puede ser utilizada como una herramienta complementaria de gran utilidad en los diferentes campos odontológicos, por modular la inflamación, generar analgesia y mejorar la cicatrización o reparación tisular. Por ello y por constituir la FBM el eje de gran parte del estudio abordado en el presente trabajo de investigación, le dedicamos el siguientes epígrafe. [129]

4.3. Fotobiomodulación (FBM)

Numerosos estudios han mostrado efectos biomoduladores de la radiación láser en las células del tejido oral durante la terapia láser. Se ha visto que contribuye a la regenración de los tejidos y aumenta la velocidad de cicatrización. Estos efectos se han asociado con el empleo de radiación láser de bajo nivel de energía (radiación láser con emisión en la región del espectro rojo o del infrarrojo cercano, con una potencia media de 50 mW hasta 1 W), denominándose a este tipo de terapia como Fotobiomodulación (FBM). [130] La FBM se basa en el principio de la ley de Arndt-Schulz que establece que "una dosis baja de cualquier sustancia o medicamento tiene un efecto estimulante, mientras que una dosis más alta tiene un efecto inhibidor". [131] Los láseres de diodo de baja potencia y los diodos emisores de luz (LEDs; light-emitting diodes), son las fuentes de luz más comunes empleadas para desencadenar los procesos fotobiomodulatorios. Por las características de la emisión, la FBM actúa a través de una interacción no térmica, sino de carácter fotoquímico en las células, así concretamente, una diana

(molécula fotoaceptora) identificada en la FBM, es una enzima altamente especializada, la Citocromo c oxidasa (CCO), localizada en la mitocondria y que desempeña un papel crucial en la bioenergía celular (Figura 2). [132,133]

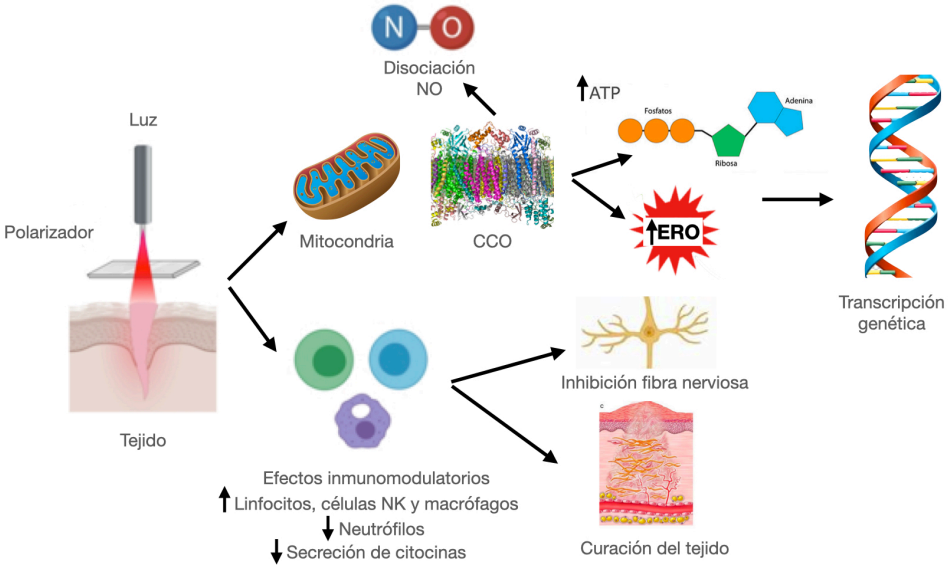

Figura 2.- Efecto fotobiomodulativo

La CCO, es la enzima terminal final en la cadena respiratoria mitocondrial celular. [134,135] Se ha demostrado que tiene la capacidad de absorber fotones de la región roja a infrarroja cercana, que afectan su estructura y / o función. [136,137] Cuando la luz roja o infrarroja cercana interactúa con la CCO aumenta su energía disponible y, por lo tanto, aumenta la capacidad mitocondrial para generar adenosina trifosfato (ATP). [138] El mecanismo preciso de cómo FBM afecta a la CCO sigue siendo desconocido, pero la teoría actual más aceptada se basa en la interacción entre el óxido nítrico (NO), oxígeno y CCO. [139] Se ha demostrado que el óxido nítrico compite con el oxígeno para interactuar con la CCO, dando como resultado una oxigenación celular y una producción de ATP disminuidas. [140] Además, en estudios in vitro, se ha visto que el óxido nítrico exógeno inhibe directamente los efectos celulares funcionales de FBM. [141] La FBM causa la disociación del óxido nítrico de CCO a nivel mitocondrial, lo que resulta en una mayor tasa de oxigenación celular y aumento de la producción de ATP. [142]

La FBM parece no solo afectar la función mitocondrial, también se ha demostrado que tiene un efecto sobre las especies reactivas del oxígeno celular (ERO) (Figura 2). [138] Las ERO son moléculas importantes en la señalización redox, estrés oxidativo,

señalización celular, activación enzimática, regulación de los ciclos celulares y síntesis de proteínas. [139,143] En muchos procesos celulares, una parte del oxígeno metabolizado se convierte en ERO. La FBM promueve el metabolismo del oxígeno, presumiblemente a través de sus efectos sobre las mitocondrias, lo que puede conducir a un aumento de la producción de ERO. [138] Las ERO también pueden activar el factor nuclear kappa beta (NF-κB). [144] NF-κB es un factor de transcripción que puede activar una serie de genes, incluidos los codificados para citocinas y liberación de quimiocinas, adhesión celular, receptores de la superficie celular, antiapoptosis y proliferación celular. [145,146] La FBM ha demostrado aumentar NF-κB, presumiblemente a través de la generación de ERO. [144] NF-κB generalmente se considera proinflamatorio y FBM antiinflamatorio. En principio esto no parece compatible, sin embargo, se propone que tanto ERO como NF-κB puedan desempeñar un papel en la relación dosis-respuesta de la FBM. En la cantidad adecuada, NF-κB puede causar una reducción de la apoptosis, y aumento de la proliferación y migración celular: respuestas que se consideran beneficiosas para la curación de tejidos. [147] Las ERO también puede causar la modulación de la transcripción del ADN y, por lo tanto, puede activar genes que juegan un papel protector dentro de la célula. [146] Estos cambios en la expresión génica han sido demostrados a través de múltiples líneas celulares. Por ejemplo, los experimentos in vitro en fibroblastos han demostrado que la FBM promueve la regulación positiva de múltiples genes involucrados en la reparación del ADN (MPG), inflamación (LENG5), crecimiento y proliferación (CDK5R1) y metabolismo (CANX). [148-150]

Además, la FBM puede causar una mayor proliferación de macrófagos, [151] un aumento de los linfocitos y de las células asesinas naturales (NK) [152] y, curiosamente, una disminución en la cantidad de neutrófilos en áreas de inflamación. [153] Estos cambios inmunes son fundamentales para producir una supresión del dolor. Se sabe que la FBM modula múltiples sustancias relacionadas con los mediadores inflamatorios de la nocicepción, que incluyen: prostanoides (prostaglandinas, leucotrienos, eicosanoides); quininas, serotonina, histamina, citocinas, neuropéptidos, ERO y ATP. [154]

Un incremento del potencial de membrana mitocondrial y del gradiente de protones en el espacio intermembranoso de la mitocondria se ha observado con la aplicación de la FBM, generando cambios en las propiedades ópticas de la mitocondria, aumentando la tasa de intercambio de difosfato de adenosina/trifosfato de adenosina (ADP/ATP). [155] La regulación al alza de ATP tras la irradiación con láser de bajo nivel energético también se acopla con incrementos transitorios de las ERO, participando a continuación

en la transducción de señales intercelulares.[156] Se ha observado que la modulación del metabolismo celular y de la transducción de señales altera la expresión genética,[157] la proliferación celular,[158] el nivel de calcio[159] y el gradiente de protones y el consumo de oxígeno.

La FBM puede conducir a respuestas curativas en los tejidos como consecuencia de su interacción biomoduladora con las células, resultado de las interacciones fotoquímicas y biológicas no térmicas ya explicadas anteriormente (Figura 1).[160]

Fotobiomodulación en periodoncia y ortodoncia

La FBM puede considerarse como un método mínimamente invasivo capaz de reducir el dolor y la inflamación y por ende solucionar la incomodidad de los pacientes y promover la curación de los tejidos orales.[161-163]

La periodoncia ha adoptado la FBM en sus tratamientos quirúrgicos y no quirúrgicos en tejidos periodontales, principalmente como tratamiento complementario, para reducir la inflamación gingival. Recientemente ha quedado demostrado que la condición periodontal mejora cuando la FBM se aplica de manera complementaria al tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal,[164,165] y del mismo modo, mejora el curso de la enfermedad periodontal cuando es así aplicada, en pacientes con enfermedades sistémicas (ej. diabetes)[166] También la FBM mejora las condiciones periodontales y la regeneración ósea cuando se aplica de manera complementaria a la cirugía periodontal regenerativa[167] y que la FBM mejora la cicatrización de las heridas de los tejidos blandos periodontales tras una cirugía periodontal.[168]

La ortodoncia se ha beneficiado del uso de la FBM sobre todo para aliviar el dolor asociado a los movimientos ortodóncicos, que aparece como resultado de fuerzas de compresión que conducen a isquemia, inflamación y edema en los tejidos periodontales. La FBM reduce el dolor experimentado en las primeras fases del tratamiento durante la etapa de alineación dentaria y el que aparece en los días posteriores a la activación del arco.[161] Se ha demostrado que el uso de FBM es útil y efectivo para reducir el dolor ya que presenta un efecto neuronal que genera una estabilización del potencial de membrana, inhibiendo la activación de la señal de dolor. Hay estudios que concluyen que después de la irradiación con radiación láser de baja potencia, se produce una supresión de la respuesta pulpar a la estimulación dolorosa, y una disminución de los mediadores inflamatorios como la prostaglandina E2 (PGE2), relacionados con el dolor.[169,170]

El movimiento ortodóncico es el resultado de la remodelación ósea y de los tejidos periodontales tras la aplicación de la fuerza ortodóncica.[3] Acelerar el remodelado del hueso alveolar durante el tratamiento acortaría el tiempo requerido. La FBM al normalizar la microcirculación, facilitar la oxigenación celular y activar la fagocitosis, modula la respuesta inflamatoria a la vez que estimula la proliferación celular aumentando la capacidad reparativa del hueso.[171] Este efecto anabólico aumenta aún más la aceleración del movimiento dental al estimular la proliferación y diferenciación de diferentes grupos celulares como osteoblastos, osteoclastos y fibroblastos, lo que genera un efecto estimulante para la remodelación ósea, síntesis de colágeno y revascularización.[156,172]

La velocidad de remodelación ósea depende de los osteoblastos, que no solo se encargan de formar hueso, si no que también activan y reclutan a los precursores de los osteoclastos. Aun así, para que se produzca la comunicación entre osteoclastos y osteoblastos existe un factor intermediario sobre la superficie del osteoblasto denominado Ligando del Receptor del Activador del Factor Nuclear Kß (RANKL), el cual es responsable de la inducción de la osteoclastogénesis.[173] La unión del RANKL a su receptor cognitivo, Receptor del Activador del Factor Nuclear Kß (RANK), expresado en la superficie de las células progenitoras de osteoclastos, induce la osteoclastogénesis y activa osteoclastos, lo que resulta en mayor reabsorción ósea.[174] Sin embargo, el RANKL también tiene el potencial de ligarse a la osteoprotegerina (OPG) e inhibe la activación del RANKL inhibiendo la osteoclastogénesis y por tanto la reabsorción ósea. De esta forma, el remodelado óseo está controlado por un balance entre la unión RANK- RANKL y la producción de OPG.[175]

Dado que las vías biológicas relacionadas con la remodelación ósea parecen ser similares a las de la reabsorción radicular, el sistema RANK / RANKL / OPG parece contribuir no solo a la remodelación ósea alveolar sino también a la reabsorción fisiológica de la raíz y la reabsorción radicular resultante tras el tratamiento de ortodoncia.[176] Los estudios han encontrado un aumento en la expresión de RANKL y una reducción en los niveles de OPG en pacientes que presentaron reabsorción radicular externa severa en la región apical en comparación con el grupo sin reabsorción.[177] Un estudio reciente ha demostrado que la sobreexpresión de OPG promueve una mayor actividad cementoblástica.[178] Estudios publicados sobre la aplicación de FBM durante el tratamiento ortodóncico demuestran la capacidad de la FBM para estimular la

remodelación y regeneración ósea, [179,180] e inhibir la reabsorción radicular generada por el propio tratamiento de ortodoncia (Figura 3). [181,182]

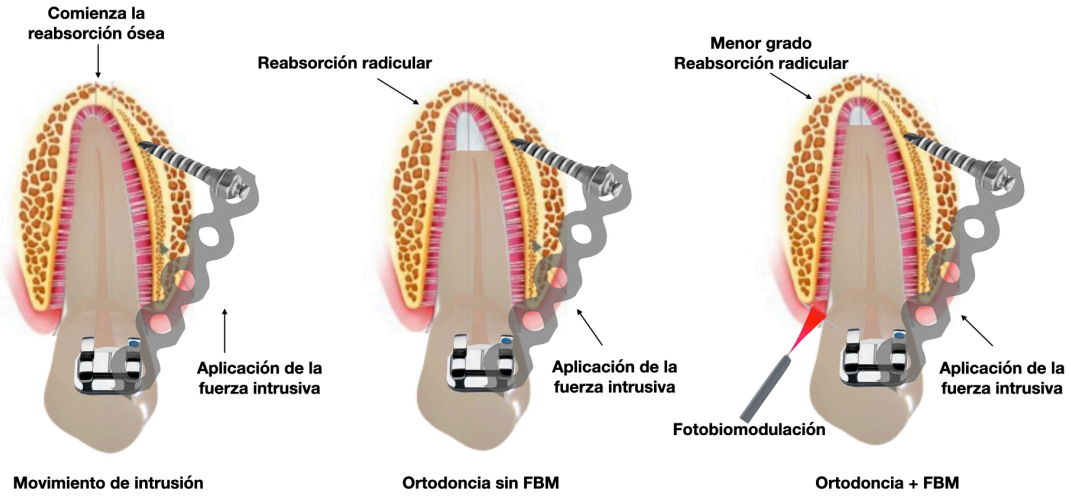

Figura 3.- Efecto de la FBM en el grado de reabsorción radicular asociado al movimiento de intrusión.

Finalmente, el efecto antiinflamatorio de la FBM tiene un valor añadido en la ortodoncia lingual, donde los procesos periodontales y ortodóncicos se aúnan estrechamente en los primeros estadíos, por lo que podría perfilarse perfectamente como una buena alternativa para modular los de procesos biológicos desencadenados al inicio de dicho tratamiento (dolor e inflamación gingival), tanto por la fuerza ortodóncica como por el roce del dispositivo con la encía y la lengua y la dificultad de llevar a cabo una exhaustiva higiene oral.

4.4. Nuevos métodos profilácticos: Terapia Fotodinámica (TFD)

Historia

La combinación de sustancias químicas y luz se atribuye a Oscar Raab en 1900, que accidentalmente promovió la muerte de protozoos después de una reacción fotobiológica que más tarde se descubrió que era un fenómeno dependiente del oxígeno. [183] Sin embargo, las investigaciones sobre la eficacia antimicrobiana de la llamada TFD disminuyeron progresivamente con la llegada de los antibióticos en 1928. [184]

Posteriormente, en distintos periodos del siglo pasado fue evolucionando como tratamiento antineoplásico y como terapia antimicrobiana.

La TFD con fines antineoplásicos comenzó a desarrollarse rápidamente dentro de diversas especialidades médicas desde la década de 1960.[185] Un avance transcendental se produce en 1976 cuando Kelly y Snell llevaron a cabo el primer estudio de los efectos de la TFD empleando HpD (derivado de la hematoporfirina) en pacientes con cáncer de vejiga.[186] En 1978 Dougherty describió el tratamiento de veinticinco pacientes, con un total de 113 tumores de piel primarios y secundarios con TFD empleando HpD, obteniéndose resultados espectaculares.[187] Todo ello sentó las bases de numerosos estudios en los años 80 demostrando la eficacia clínica de la TFD en el tratamiento de distintos tumores, de manera que a finales de los años 90, la TFD estaba instaurada como tratamiento convencional del cáncer, como la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia.[188,189] Actualmente, la TFD tiene un papel importante en el tratamiento de tumores de esófago,[190] piel (melanoma y no melanoma),[191,192] próstata y vejiga,[193] ginecológicos,[194] de pulmón (de células no pequeñas),[195] cerebral (glioma),[196] cáncer de mama primario[197] y lesiones de cuello y cabeza.[198]

Con el creciente desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos, la TFD desde 1990 volvió a centrar una mayor atención como tratamiento antimicrobiano, ya que representa una alternativa potencial para la erradicación bacteriana sin que se hayan descrito por el momento la aparición de resistencias.[199,200] Las propiedades antimicrobianas de la TFD han sido ya demostradas en numerosos estudios.[201-204] Esta terapia se puede combinar también con otros agentes antimicrobianos para evitar la colonización bacteriana y la formación de biofilm en biomateriales médicos implantados.[205]

La versatilidad y eficacia de la TFD le ha encontrado un hueco en campos diferentes al oncológico y antimicrobiano. En oftalmología, en enfermedades de la retina[206] en cardiología, en pruebas de cateterismo,[207] en dermatología, en el rejuvenecimiento facial;[208] en el tratamiento de trastornos inmunológicos como el liquen oral plano.[209]

En el campo odontológico, la aplicación de la TFD ha ido creciendo de manera significativa con los años, demostrando un gran potencial en el tratamiento de lesiones orales capaces de transformarse en tumores malignos,[210] cáncer oral (leucoplasia y carcinoma oral de células escamosas),[211,212] así como de infecciones provocadas por bacterias y hongos.[213,214]

Mecanismo de acción

La terapia fotodinámica (TFD) precisa la presencia de 3 elementos básicos: 1) un agente fotosensibilizador (FS) no tóxico; 2) fuente de luz bien sea una lámpara, láser, LED, con una longitud de onda y potencia adecuada para ser absorbida y causar la fotoexcitación del FS; 3) presencia de oxígeno molecular intracelular disuelto en el tejido tratado. La TFD se basa en la interacción entre estos componentes y su efectividad depende de su cooperación. [215] La tasa de éxito de la TFD puede verse afectada por el oxígeno presente en el tejido, la concentración de FS, el tiempo de incubación del FS, el tiempo de aplicación de la luz y la cantidad (sesiones) de tratamiento. [216]

Existen dos tipos de reacciones diferentes que se dan dentro de la TFD en función de una baja o alta concentración de oxígeno en el tejido donde se aplica (Figura 4). En la reacción de Tipo I (predominante cuando la concentración de oxígeno en el tejido examinado es baja), el estado triplete excitado del FS interacciona con las moléculas del tejido enfermo generándose radicales que en presencia del oxígeno circundante originan las especies reactivas del oxígeno (ERO). Las ERO pueden oxidar gran variedad de biomoléculas. En la reacción de Tipo II, el estado triplete excitado del FS interacciona con el oxígeno formándose el oxígeno singlete (oxígeno en el estado singlete excitado), que es una molécula altamente reactiva que fácilmente daña a las células. Este tipo de reacciones predominan en el organismo humano debido al alto nivel de oxígeno. [217,218]

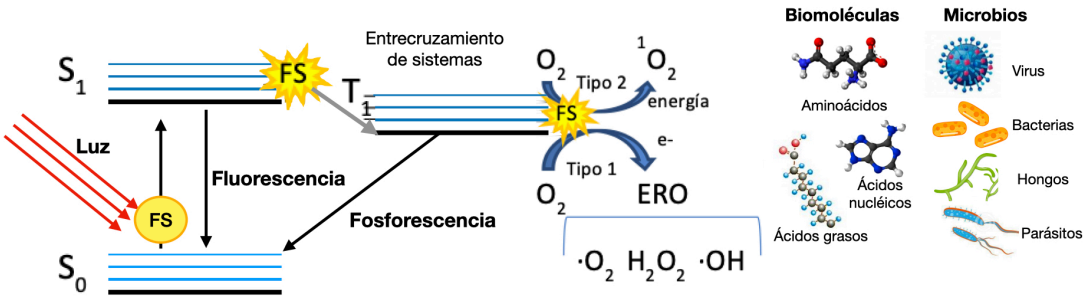

Figura 4.- Mecanismo de acción de la TFD. S_0: estado energético fundamental singlete; S_1: estado energético excitado singlete; T_1: estado energético excitado triplete.

Estos procesos causan un daño oxidativo severo a todos los componentes intracelulares, incluidas proteínas, macromoléculas biológicas, como el ADN, ARN, lo que induce la necrosis o apoptosis celular y la destrucción de los tejidos. [219] La apoptosis equivale a la muerte programada de la célula y se piensa que se produce fundamentalmente por el daño causado por todas estas especies reactivas de oxígeno sobre las mitocondrias.

La TFD activa diferentes mecanismos de muerte celular, incluida la apoptosis y / o necrosis. La apoptosis es inducida por bajas dosis de TFD, mientras que la necrosis por dosis elevadas. Las células mueren necróticamente si el daño es tan masivo que altera la membrana citoplasmática o rebaja el nivel de energía celular, evitando así procesos dependientes de energía como la apoptosis. [220]

En la TFD antimicrobiana, se ha propuesto que las ERO generadas durante el proceso fotodinámico, pueden desencadenar el daño o la muerte celular a través de tres mecanismos, daño a la membrana celular o a la envoltura del virus; inactivación de enzimas y proteínas esenciales; y / o daño al ADN o al ARN. [201] El foto-daño inducido por la TFD puede resultar en unos cambios considerables respecto a la morfología y funcionalidad de las estructuras microbianas. El daño funcional resulta de la pérdida de actividades enzimáticas, oxidación de proteínas y formación de enlaces cruzados proteína-proteína e inhibición de los procesos metabólicos (por ejemplo, síntesis de ADN, transporte de glucosa). [221] Las alteraciones morfológicas incluyen alteración de la estructura del mesosoma. El daño directo a la membrana celular conduce a fugas de contenido celular y a la inactivación del sistema de transporte de membrana. [222] Existe una variación muy amplia en la organización estructural entre las diferentes clases de microbios.

En las bacterias, para que la TFD sea efectiva, el FS necesita penetrar (o al menos unirse a la pared celular bacteriana) y terminar en la membrana plasmática o en el citoplasma. Sin embargo, las barreras de la pared celular limitan la difusión del FS. [223,224] Las diferencias entre las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas juegan un papel importante en la susceptibilidad de estas a la TFD. Varios autores han afirmado que la TFD es más efectiva en la inactivación de bacterias Gram positivas, ya que su pared celular, compuesta de peptidoglicano y ácido lipoteicoico, es relativamente más porosa, permitiendo que el FS llegue a la membrana citoplasmática. [225] En contraste, las bacterias Gram negativas tienen una morfología mucho más compleja. Su pared celular contiene lipopolisacáridos cargados negativamente, lipoproteínas y proteínas además de peptidoglicano. Esta organización estructural forma una barrera física y funcional que dificulta la penetración del FS. [226-228]

La TFD también es efectiva contra virus. La estructura del virus juega un papel importante en la efectividad de la TFD. [221,222] En general, los virus se clasifican de acuerdo a si se rodean por una envoltura o no. Los virus presentan una cubierta proteica que protege al ADN o ARN llamada cápside y, en algunos casos, no todos, una

bicapa lipídica que los rodea cuando se encuentran fuera de la célula, denominada envoltura vírica. Esta envoltura es el objetivo principal para la TFD.[229] Se ha visto que los lípidos y las proteínas de la envoltura actúan como sitios de unión del FS, y el daño proteico puede ser el mecanismo subyacente a la inactivación del virus.[230-232]

Los hongos son mucho menos susceptibles a la muerte por TFD que las bacterias debido al mayor tamaño de la célula fúngica en comparación con la célula bacteriana. La cantidad de ERO necesaria para matar una célula de este tipo es mucho mayor que la necesaria para matar una célula bacteriana.[233,234]

Los hongos presentan objetivos celulares mucho más complejos que las bacterias o los virus. La levaduras y los hongos patógenos son variables en sus envolturas celulares y en sus paredes celulares externas, las cuales están compuestas básicamente de polisacáridos y proteínas. Entre los polisacáridos destacan la quitina, el glucano y el manano. Las proteínas generalmente están asociadas a polisacáridos formando glicoproteínas. Esta estructura los hace más permeables a las sustancias externas en comparación con las bacterias Gram negativas, pero menos permeables que las bacterias Gram positivas.[235] Las esporas son las responsables del inicio de la infección, y con frecuencia sobreviven a los tratamientos favoreciendo las reinfecciones.[236] Los estudios demuestran que la TFD destruye las hifas e inactiva las esporas del hongo.[237] También se ha demostrado que tras la fotoexcitación de FSs capaces de acumularse en la membrana, ésta se hace más permeable, causando la muerte del hongo.[238] El oxígeno singlete generado destruye la membrana celular y aumenta su permeabilidad, lo que resulta en la destrucción de la estructura fúngica, acelerando así la lisis y muerte celular.[239]

La TFD presenta como ventajas su coste relativamente bajo, no es invasiva, daña de manera selectiva solo las estructuras impregnadas con FS manteniendo el tejido circundante a salvo, se puede aplicar a nivel local y superficial, no se observan apenas efectos secundarios severos, es un tratamiento seguro y en el caso de su aplicación con fines antimicrobianos, no se observa la aparición de resistencias[228] La TFD tiene otros beneficios en el tratamiento de las infecciones, como un amplio espectro de acción, la capacidad de promover actividad fototóxica contra una amplia variedad de microorganismos y un bajo potencial mutagénico en las células expuestas.[222]

Agentes fotosensibilizadores

Los parámetros importantes que influyen en la interacción microorganismo-FS son la solubilidad relativa del FS en agua y lípidos, su constante ionización y otros factores más específicos, como la absorción de luz y la eficiencia de formación del estado triplete de oxígeno excitado y la producción del oxígeno singlete. [213]

A pesar de la mayor estabilidad presente por los colorantes sintéticos como FS, los compuestos naturales han sido ampliamente estudiados y aceptados, principalmente porque son menos propensos a efectos colaterales e interacciones farmacológicas. [240,241]

La curcumina (CUR) es un colorante natural, un compuesto fenólico, miembro de la familia de los curcuminoides, que se puede extraer de los rizomas de la cúrcuma. CUR ha demostrado un gran potencial para su uso en medicina debido a sus propiedades bioactivas, antiinflamatorias, efectos antisépticos, antivirales y antitumorales. [242,243]

CUR también ha demostrado gran potencial como FS debido a su capacidad para absorber la luz azul. [244,245] La evidencia científica muestra aplicaciones prometedoras de CUR contra diferentes enfermedades, incluidas algunas de las principales patologías orales. [241,246]

La mayoría de los FS reconocidos tanto en el área médica como en la dental son de origen sintético. Los FS se clasifican como derivados o no de la porfirina (tetrapirrol). Los FS derivados de la porfirina se clasifican además como FS de primera, segunda o tercera generación. Los de primera generación incluyen el derivado de hematoporfirina (HpD), cuyo nombre comercial es Photofrin®, formado por una mezcla de oligómeros de hematoporfirina unidos por enlace éter y éster. Los de segunda generación son compuestos químicamente puros en comparación con los de primera generación (mezclas), derivan de clorinas y ftalocianinas, incluyen el ácido 5-aminolevulínico (ALA), el derivado de benzoporfirina, texafirina y temoporfina. [247] Los de tercera generación están unidos a portadores como anticuerpos y liposomas selectivos para tejido tumoral. [248]

Dentro de los FS de origen sintético no derivados de la porfirina, un grupo muy utilizados actualmente en odontología son fenotiazinas, como es el caso del azul de metileno (AM) y el azul de toluidina (TBO). TBO se usa para teñir anormalidades en la cavidad bucal y delimitar su grado, previo a la escisión. La TFD mediada por TBO ha demostrado ser muy eficaz en la erradicación de bacterias en la cavidad oral. [247] TBO tiñe selectivamente los componentes ácidos del tejido (sulfatos, carboxilatos y radicales

fosfato). Tiene afinidad por los ácidos nucleicos y, por lo tanto, se une a los tejidos con un alto contenido de ADN y ARN. [249]

La eritrosina es otro colorante, en este caso derivado de xanteno, eficaz para la reducción de bacterias Gram positivas, bacterias Gram negativas y levaduras durante la TFD. [250,251] Se usa en odontología para revelar biopelículas y es ideal en comparación con otros colorantes, porque no muestra toxicidad directa al tejido del huésped. Es un tratamiento antibacteriano eficaz para lesiones cariosas. [252]

Azul de metileno

Para mejorar la penetración del FS a través de la membrana externa de las bacterias Gram negativas, se ha propuesto el uso de derivados de la fenotiazina (AM y TBO), debido a su hidrofilia, bajo peso molecular, y su carga positiva. [247] La fotoactivación del AM causa daño en ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y membrana plasmática de los microorganismos. [252-254]

El AM se ha utilizado durante mucho tiempo para detectar células premalignas y como marcador de tejido en cirugía. Absorbe en la región de 550–700 nm, registrándose el máximo de absorción a 664 nm. [219] Puede inducir la formación de radicales tipo I o ERO y tipo II (oxígeno singlete), lo que extiende su aplicación en la TFD, y su fácil disponibilidad lo convierte en un FS muy utilizado. [219]

En la actualidad numerosos tratamientos en diferentes disciplinas médicas se están llevando a cabo mediante el uso de TFD mediada por AM.

Las limitaciones actuales de los agentes antifúngicos para el tratamiento de las infecciones por hongos, como por ejemplo, la candidiasis vaginal, han reforzado la necesidad de buscar diferentes enfoques de tratamiento. Un estudio reciente ha demostrado la efectividad del AM para prevenir la infección, al mismo tiempo que una TFD mediada por AM puede ser considerada como una opción terapéutica para disminuir la infección micótica en una candidiasis vaginal. [255]

Las infecciones del tracto urinario resistentes a antibióticos son difíciles y a veces imposibles de erradicar. Muchas de estas infecciones son causadas por *Escherichia coli* uropatógena. Recientemente, en un estudio con animales de experimentación, se ha observado que la TFD mediada por AM es capaz de inactivar esta infección. Además no se detectaron signos de daño en el revestimiento de la vejiga. Por tanto este procedimiento para tratar las infecciones urinarias sin antibióticos puede tener aplicabilidad clínica, inicialmente como una terapia independiente o como un

complemento al tratamiento con antibiótico ya que provoca una reducción rápida y sustancial de la carga bacteriana. [256]

El virus del herpes simple-1 (HSV-1) es un virus de ADN que causa gingivoestomatitis herpética primaria y lesiones mucocutáneas en el complejo orofacial que incluye labios, nariz, boca y ojos. [257,258] Los síntomas son hormigueo, picor o ardor seguido de una pápula que progresa a una lesión vesicular, con costra y posterior cicatriz. [258,259] El tratamiento más común consiste en el uso de antivirales sistémicos y / o tópicos. El aciclovir es uno de los que se usan con más frecuencia para prevenir o suprimir brotes recurrentes de HSV-1. [258,259] Sin embargo, el uso continuo de estos antivirales aumenta la posibilidad de desarrollar resistencia. [258] La TFD basada en AM ha surgido como una alternativa, para acelerar la curación y minimizar la formación de vesículas. Presenta resultados eficientes sin efectos secundarios y buena aceptación por parte de los pacientes. [260,261]

Cada vez hay más estudios publicados sobre TFD mediada por AM en diferentes situaciones odontológicas, demostrando efectos bactericidas, como la eliminación del microorganismo cariogénico *S. mutans*, [252] y la reducción de periodontopatógenos. [262] Se ha observado también su capacidad para reducir la severidad de la mucositis oral inducida por quimioterapia [263] y efectos antiinflamatorios capaces de tratar el liquen plano oral. [209]

Fuentes de luz empleadas en TFD

En la TFD, las fuentes de luz empleadas influyen directamente en la eficacia del tratamiento y se pueden contemplar varias opciones, desde láseres continuos de baja potencia hasta fuentes de luz no coherente (LED, lámparas incandescentes, lámparas de arco de alta presión y lámparas de arco de baja presión).

Los láseres emiten una luz monocromática lo cual le permite la máxima efectividad en la longitud de onda correspondiente, la irradiación es intensa y ello minimiza el tiempo de exposición. Además se puede ajustar al máximo la precisión del foco y tratar áreas muy pequeñas. [264] Los láseres más utilizados en el ámbito sanitario son, o bien los de luz azul, que debido a su longitud de onda relativamente corta (λ=405 nm), tienen una baja capacidad de penetración en los tejidos biológicos, o los de luz roja, que al tener mayor longitud de onda (λ=635 nm) presentan una mayor penetración por proximidad a la ventana terapéutica (650 nm y 1.100 nm). En función de la lesión que se quiera tratar está indicado un tipo de luz u otro. [265]

Los LED proporcionan luz no coherente, la dosimetría es menos precisa y la densidad de la luz es menor en los bordes que en el centro, pero su manejo es muy sencillo y permiten tratar con eficacia lesiones extensas en las cuales no es importante la penetración en profundidad. [266]

La luz pulsada intensa (IPL) es una fuente de luz incoherente, policromática, de alta intensidad, con un espectro de emisión entre 515 nm a 1200 nm. Se utilizan diversos filtros (cristales de cuarzo o zafiro) para limitar el rango de emisión en función de la aplicación deseada. Se emplea comúnmente en TFD aplicada al fotorejuvenecimiento. [266]

Recientemente, la TFD con luz diurna se está investigando cada vez más y se ha visto que produce resultados con poca o ninguna molestia para los pacientes. El desafío está en determinar y estandarizar los tiempos de exposición para varias latitudes y variaciones estacionales de luz. [267]

TFD para prevenir la inflamación gingival y la desmineralización del esmalte durante el tratamiento ortodóncico

Varios estudios han mostrado que la terapia antimicrobiana sistémica cuando se aplica de manera complementaria al tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica incrementa los beneficios clínicos. [268] De manera similar, la TFD puede ser un complemento de la terapia periodontal permitiendo una desinfección local de la bolsa periodontal. [202] Varios estudios avalan la eficacia de la TFD en el control de diferentes biofilms dentales al reducir la viabilidad bacteriana mediante el empleo de diferentes fuentes de luz y agentes fotosensibilizantes. [269,270] La acción antimicrobiana de la TFD en el surco gingival permite la reducción de la inflamación gingival. [271]

Entre las terapias para el manejo moderno de la caries, se incluyen estrategias no invasivas para el control de la desmineralización y la reparación de tejidos. El principio básico es establecer condiciones que fomenten la remineralización de lesiones cariosas incipientes a través de una estrategia biológica o terapéutica en lugar del tradicional tratamiento restaurador. [272,273] La TFD surge en este escenario como una técnica novedosa para reducir la microbiota en la cavidad oral y evitar la progresión de la caries. Recientes investigaciones demuestran la capacidad de la TFD para la reducción efectiva del *S. mutans* en biopelículas dentales. [274] La disminución de la carga bacteriana cariogénica permite detener la progresión de la caries y evitar la desmineralización. [275]

5. OBJETIVOS

El desarrollo de la tecnología láser trae consigo un crecimiento y evolución de sus aplicaciones en las diferentes disciplinas odontológicas. Cada vez se hace más necesario profundizar en la interacción de las diferentes fuentes de luz láser con el tejido dental y de sus efectos cuando se administra complementariamente a un tratamiento odontológico específico.

De acuerdo con las consideraciones expuestas, el objetivo principal del presente trabajo ha sido evaluar los efectos clínicos, antimicrobianos e inmuno-inflamatorios de la TFD y FBM aplicadas en diferentes tratamientos de ortodoncia.

Para la consecución de este objetivo principal, se plantearon los siguientes objetivos específicos/secundarios:

1.- Evaluar los efectos clínicos, inmuno-inflamatorios y antimicrobianos de la TFD en pacientes jóvenes con inflamación gingival debido al tratamiento prolongado con aparatología fija multibrackets. Comparar estos efectos con los obtenidos tras la implementación con US (Capítulo 1).

2.- Evaluar los efectos clínicos e inmuno-inflamatorios de la FBM aplicada en dosis repetidas en la fase inicial de un tratamiento ortodóncico lingual, en adultos con periodonto sano (Capítulo 2A).

3.- Analizar el efecto de la FBM en el movimiento de intrusión molar asistida por minitornillos, cuantificando la velocidad de movimiento, medida de la reabsorción apical y de los parámetros clínicos periodontales (Capítulo 2B).

6. ESTRUCTURA DE LA MEMORIA

Esta Memoria se ha redactado siguiendo el formato de recopilación de artículos científicos ya publicados, los cuales, para facilitar su lectura, se han agrupado en dos capítulos atendiendo a los objetivos perseguidos:

Capítulo1: TFD en adolescentes durante el tratamiento ortodóncico con aparatología fija.

Capítulo 2: FBM en ortodoncia

Capítulo 2A: Efectos de la FBM en el estado periodontal de pacientes tratados con ortodoncia lingual.

Capítulo 2B: Efectos de la FBM en el movimiento de intrusión molar con minitornillos.

CAPÍTULO 1

TFD en adolescentes durante el tratamiento ortodóncico con aparatología fija.

C1.1. JUSTIFICACIÓN

Durante el tratamiento de ortodoncia con aparatología fija multibrackets, especialmente en pacientes jóvenes, la condición periodontal empeora, debido a la dificultad de acceso a todas las zonas dentarias y gingivales, y por ello a la dificultad de lograr un buen cepillado, dado el impedimento que generan los aparatos de ortodoncia. Esta alteración del periodonto, si no es controlada, no solo dificulta el movimiento dentario, sino que puede producir alteraciones periodontales que podrían ser irreversibles.

Por todo ello, es muy importante el control de la salud periodontal durante el tratamiento de ortodoncia, el cual se lleva a cabo mediante un exhaustivo control de la higiene y en muchos casos, con la remoción de placa mediante técnicas convencionales. Desde hace tres décadas, numerosos estudios demuestran la capacidad antimicrobiana de la TFD. Esa base científica, permite presuponer que la TFD puede tener efectos positivos en adolescentes sometidos a tratamiento de ortodoncia fijo. Por esta razón, el presente estudio tiene como objetivo comparar un protocolo de TFD con otro basado en la remoción de la placa con un ultrasonidos dental, en pacientes que ya tienen un cierto grado de inflamación gingival por llevar más de un año con tratamiento ortodóncico fijo, a través de la evaluación de parámetros clínicos periodontales, mediadores pro-inflamatorios y recuento de periodontopatógenos y agentes cariogénicos.

C1.2. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

La metodología llevada a cabo en este estudio, así como los resultados obtenidos se describen de forma detallada en las publicaciones que se adjuntan en el ANEXO I.

Materiales y métodos

Se realizó un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego, siguiendo las pautas de la Declaración CONSORT. Dentro del Máster de Ortodoncia de la UCM, se seleccionaron 20 sujetos sanos con edades comprendidas entre 12 y 18 años, tratados con aparatología fija multibrackets durante al menos un año y con claros signos de inflamación gingival, que fueron divididos al azar en dos grupos de 10 pacientes: el grupo 1 tratado con TFD mediada por AM y el grupo 2 tratado con US. Ambos tratamientos se aplicaron en dosis repetidas, cuatro veces, en intervalos de 2 semanas al comienzo del estudio (T0), y a los 3 (T1), 6 (T2) y 9 meses (T3), un total de siete veces a lo largo del estudio. Se midieron los parámetros clínicos índice de placa (IP), índice gingival (IG) y profundidad de

sondaje (PS) y además se recogieron muestras de saliva y de FCG en T0, T1, T2 y T3. Estas muestras se analizaron para determinar *Streptococcus mutans* y los periodontopatógenos más comunes, *Agregatibacter actinomycetemcomitans; Porphyromonas gingivalis; Prevotella intermedia; Micromonas micros; Fusobacterium nucleatum; Tannerella forsythia; Campylobacter rectus; Eikenella corrodens; Capnocytopaga sp.* Las muestras de FCG se analizaron mediante la tecnología Luminex® para determinar las concentraciones de 6 mediadores pro-inmunoinflamatorios, IL-1β; IL-1ra; IL-6; IL-10; TNF-α; FGF-2 / FGF básico.

Resultados

La evolución de los parámetros clínicos (IP, IG, PS) fue similar en ambos grupos, sin diferencias estadísticamente significativas (p>0,05), mostrando un mayor descenso en T1. Se observaron reducciones en las unidades formadoras de colonias totales (reducción de log UFC) principalmente en T1, de la flora total periodontopatógena en la placa subgingival y de *S.mutans* en saliva con ambos tratamientos, en mayor medida en el grupo de TFD en el caso de periodontopatógenos y en mayor medida en el grupo de US en el caso el *S. mutans* pero sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p>0,05). Se observaron reducciones similares en el recuento de *P. gingivalis, P. intermedia y F. nucleatum* en ambos grupos (p>0,05). También ambos grupos mostraron tendencias similares a lo largo del estudio en cuanto a los niveles de los mediadores pro-inmunoinflamatorios en el FCG, disminución en los niveles de IL-1 β, IL-10 y TNF-α, estabilidad de los niveles de IL-6 e IL-1ra y aumento de FGF-2 tras ambas intervenciones, sin diferencias (p> 0,05) entre grupos.

ANEXO I

Lasers in Surgery and Medicine 51:256–267 (2019)

Impact of Photodynamic Therapy Versus Ultrasonic Scaler on Gingival Health During Treatment With Orthodontic Fixed Appliances

Rosa Abellán,[1] Clara Gómez,[2]* Alejandro Iglesias-Linares,[1] and Juan Carlos Palma[1]
[1]*Complutense University of Madrid, School of Dentistry, Stomatology IV Department, Plaza Ramón y Cajal sn, 28040 Madrid, Spain*
[2]*Institute of Physical Chemistry Rocasolano, CSIC, Serrano 119, 28006 Madrid, Spain*

Objectives: Poor oral hygiene during treatment with fixed appliances results in plaque accumulation. The presence of bacteria in the gingival crevice triggers an inflammatory reaction in the gingival tissues. The aim of this study was to compare the impact of two preventive treatments, photodynamic therapy (PDT), and ultrasonic scaler (US), on gingival health in patients under fixed orthodontic treatment.
Methods: Twenty orthodontic patients were randomly allocated to two groups: PDT or US. Each group received seven sessions [days 0, 15, 30, 45, 90 (3-months follow-up), 180 (6-months follow-up), 270 (9-months follow-up)] of experimental interventions, and clinical parameters [Plaque index(PI); gingival index-(GI); probing depth(PD)], periodontopathogens [*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; *Porphyromonas gingivalis*; *Prevotella intermedia*; *Micromonas micros*; *Fusobacterium nucleatum*; *Tannerella forsythia*; *Campylobacter rectus*; *Eikenella corrodens*; *Capnocytopaga* sp.] and protein markers [*IL-1β;IL-1ra;IL-6;IL-10; TNF-α;FGF-2 / FGF basic*] were monitored at baseline and at 3, 6, and 9 months. ANOVA, Student's *t*-test with Bonferroni correction and ANOVA with multiple rank test were used to identify differences between groups ($P < 0.05$).
Results: Clinical assessments [PI, GI, and PD] yielded no differences ($P > 0.05$) between groups, which showed a major decrease at the start of the trial. Reductions in total colony forming units (log CFU reduction) were observed with both treatments, although to a greater extent in the PDT group, but with no differences between groups ($P > 0.05$). Similar reductions in log CFU counts of *P. gingivalis*, *P. intermedia*, and *F. nucleatum* were observed in both groups ($P > 0.05$). The two groups also showed similar trends for inflammatory mediators with decreased levels of IL-1β, IL-10, and TNF-α, whereas IL-6 and IL-1ra levels remained stable and those of FGF-2 were increased after both interventions, with no differences ($P > 0.05$) between groups.
Conclusion: Both PDT and US methods proved similar effectiveness for the treatment of gingival inflammation induced by fixed orthodontic appliances. Lasers Surg. Med. 51:256–267, 2019. © 2018 Wiley Periodicals, Inc.

© 2018 Wiley Periodicals, Inc.

Key words: photodynamic therapy; ultrasonic scaler; periodontopathogens; cytokines; orthodontic treatment; gingival inflammation

INTRODUCTION

Orthodontic treatment with fixed appliances generally represents a challenge in maintaining proper oral hygiene and consequently for good periodontal health maintenance, especially in younger patients [1]. Fixed orthodontic appliances facilitate the accumulation of plaque and biofilm development, which can very often induce dysbiosis. A shift in the balance of the normally stable resident oral microbiome leads to worsening periodontal conditions, which can be observed clinically and by immunohistochemical examination [2]. Given a context of pathological inflammation, orthodontic treatment can lead to potentially irreversible periodontal alterations at the cellular [3] and tissue level [4]. To date, the gold standard for the prevention of hard and soft tissues diseases during orthodontic treatment, is still the successful removal of plaque by correct brushing paired with periodic prophylactic scaling by dental professionals [5,6].

The pathogenic potential of supra- and subgingival biofilm resides not only in its microbiome composition but also in its resistance to microbial agents and ability to withstand physical dislodgement during common oral hygiene practices, even mechanical ones [7]. In this regard, alternative antimicrobial methods have been described in the past two decades, such as different kinds of laser radiation or photodynamic techniques (PDT) [8,9]. In PDT, a photosensitizer (PS) undergoes transitions through different molecular states to enable the excited PS to

Conflict of Interest Disclosures: All authors have completed and submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest and none were reported.

*Correspondence to: Clara Gómez, Institute of Physical Chemistry Rocasolano Spanish National Research Council, CSIC/Serrano 119, 28006 Madrid. Email: c.gomez@iqfr.csic.es

Accepted 18 October 2018
Published online 21 December 2018 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).
DOI 10.1002/lsm.23035

interact with surrounding molecules. This interaction leads to the generation of cytotoxic species [9,10]. The development of antimicrobial resistance is unlikely since, in microbial cells, singlet oxygen and other free radicals induce cytotoxicity by interacting directly with various pathogen cell structures [11]. The ability to promote cytotoxic activity offers a broad spectrum of action against a wide variety of microorganisms and low mutagenic potential in exposed cells [12].

Only two recent reports have studied some of the effects of PDT as oral preventive treatment in patients undergoing orthodontic treatment [13,14]. These studies concluded that PDT reduces gingival index (GI) scores [13] and *Streptococcus mutans* load in saliva [14], which could benefit orthodontically treated patients. It is important therefore to study whether the use of PDT therapy as periodontal maintenance during orthodontic treatment can improve the clinical periodontal parameters by reducing total periodontopathogenic bacteria and so modulate the host immune response and cytokine secretion profile.

Based on these considerations, the main objective of this study was to evaluate and compare *in vivo* the clinical, antimicrobial, and immune-inflammatory outcomes of two different methods: photodynamic therapy (PDT) and ultrasonic scaling (US) for recovery of periodontal health during orthodontic treatment.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

This clinical study was granted Ethical Committee approval by the Institutional Ethics Committee (Comité de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario San Carlos, Madrid, Spain. 08/30/2016. CODE: 16/364-E) in accordance with the ethical principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki (2013) [15]. Parents and/or legal guardians of the patients signed the Informed Consent. Being the patients over 12 years old but under 18-years old, they were asked to sign an adapted Informed Consent if they voluntarily decided to participate in the study.

A double-blinded full-mouth study of 9-months duration was designed (Fig. 1). Patients were randomly allocated to two different treatment groups: group 1: PDT or group 2: Ultrasonic scaler (US). The generation of random allocation sequences and assignment of patients to each group was based on patient's code, and performed by staff who were involved neither in treating the patients nor in the research. Participants and those assessing outcomes (clinical, microbiological, and protein marker assessments) were blinded after assignment to intervention. Operators were not blinded due to operative restrictions. This study has been designed following CONSORT statement guidelines. The clinical trial has been pre-registered in the European Clinical Trials Database (European Medicines Agency EudraCT//018-000465-36).

Timeline and pre-clinical trial preparation. Two weeks before the experimental assessment of treatment started, all subjects who had been accepted for inclusion in the study received training in oral hygiene techniques and were given the same toothpaste, without antiseptic, and the same toothbrush to be used regularly during research monitoring. The present study comprised seven sessions in

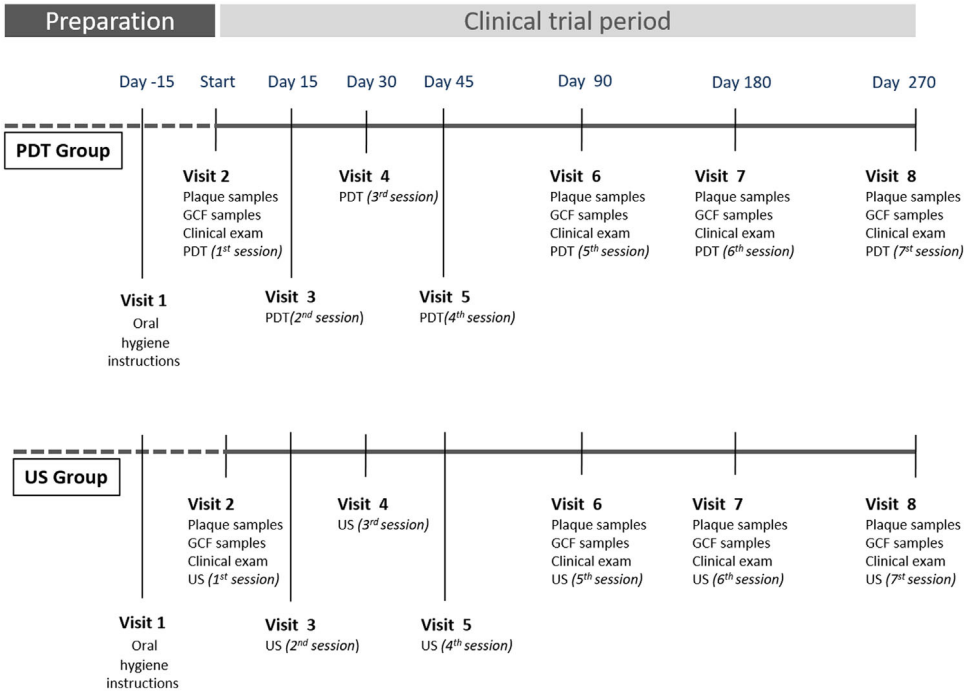

Fig. 1. Graphical representation of the clinical trial timeline and the timepoints used for experimental interventions and clinical, microbiological, and protein marker assessment.

all for each intervention (PDT and US) tested, distributed over the 9 months of the clinical study, as shown in Figure 1. In parallel, patients underwent clinical assessment, and plaque and gingival crevicular fluid (GCF) samples were collected at the start and at 3, 6, and 9 months.

Study Subjects

Sample size determination. An *a priori* power calculation was run to determine the sample size required by IBM SPSS Sample Power (v3.0), using as primary outcome GI (reduction) to detect differences of more than 0.4 between groups, assuming standard deviation of 0.38, error $\alpha = 0.050$ and statistical power of 80%. The sample requirements were set for at least 20 subjects (10 subjects per group) [13]. A total number of 22 patients (11 subjects/group) were initially enrolled for better consideration and to compensate for loss to follow-up, based on previous pilot studies.

Study sample. Patients from the Orthodontics Master's Program of the UCM (Complutense University of Madrid, Spain) were consecutively invited to participate in the study. Participants were selected according to the following inclusion criteria: 12–18 years old; under fixed orthodontic treatment (between 12 and 15 months); bleeding on probing (BOP) ~15%; GI >1.1; plaque index (PI) >1.1; probing depth (PD) <3 mm; absence of oral lesions; absence of diagnosed periodontal disease. The exclusion criteria were: smokers or former smokers; antidepressant treatment with Monoamine oxidase inhibitors (MAOIs); glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency; history of previous periodontal treatment; antibiotic or anti-inflammatory therapy received in the 3 months immediately prior to treatment or during treatment; use of antiseptic mouthwash; use of corticosteroid or immunosuppressant drugs; systemic condition that could affect the response of gingival tissues or the ability to perform adequate plaque control (diabetes, immune system disorders, etc.).

After the application of these restrictive inclusion and exclusion criteria [13] and computing loss and exclusion of patients with incompletely recorded histories, the final study population consisted of 20 systemically healthy subjects (6 female, 14 male, mean age 14.6 ± 1.6 years old). Patients underwent a non-extraction orthodontic treatment with fixed orthodontic appliances for at least 12 months (018" slot, metal brackets, Hilgers prescription [3M Unitek, Monrovia, CA]).

Experimental Interventions

Group 1: photodynamic therapy. The gingival sulcus of assigned patients was filled with PS solution (3,7-Bis(dimethyl-amino) phenazathionium chloride trihydrate (methylene blue) 0.005% (w/v)), suspended in a balanced solution of phosphate buffered saline using hydroxymethyl cellulose as a mucoadhesive viscosity agent (Periowave™ Treatment Kit, Ondine Biopharma Corporation, Vancouver, Canada). To ensure complete irrigation of the apical portion of each gingival sulcus, ~10 μl of the solution was applied directly using a 23-gauge Dentsply blunt-end, side-port delivery irrigation needle (New York, PA) (Fig. 2A). The PS was left for 3 minutes, after which any excess was gently rinsed away. For laser photoactivation, a diode laser was used (Periowave™, Ondine Biopharma Corporation), operating at a wavelength of 670 nm and equipped with a flexible fiber optic cable attached to a custom-designed stainless steel autoclavable handpiece. To allow access to the gingival sulcus, the handpiece accommodated a disposable light-diffusing tip that was configured similar to a periodontal probe. The laser radiation was applied by partially inserting the light-diffusing tip into the sulcus, no deeper than probing depth, and gently moving it along the sulcus for no more than 60 seconds per tooth (Fig. 2B). Table 1 shows a detailed description of the laser

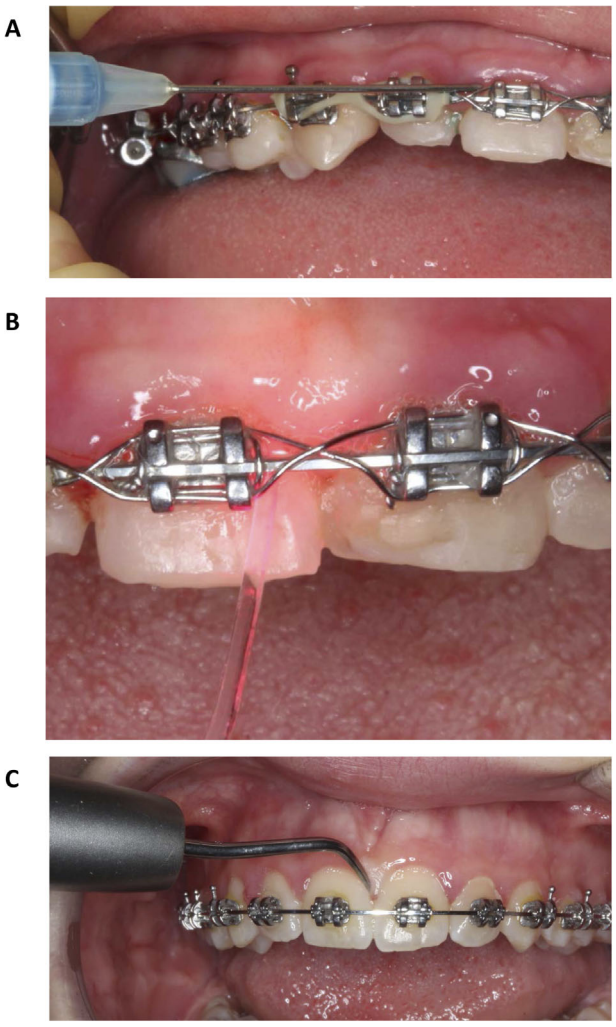

Fig. 2. (**A**) Application of methylene blue solution into the sulcus by a Dentsply 23 gauge blunt ended side-port irrigating needle. (**B**) Photoactivation by a diode laser ended in a disposable light-diffusing tip (configured similar to a periodontal probe), covering a stainless steel autoclavable handpiece. (**C**) Disruption of dental biofilm by US.

TABLE 1. Summary of PDT and US Protocol Used in This Study

PDT
PS characteristics: solution of MB 0.005% w/v
PS incubation time: 3 minutes
Photoexcitation wavelength (nm): 670 nm
Irradiation mode: continuous mode
Power output (mW): 190
Irradiance (W/cm^2): 6.05
Estimated average fluence (J/cm^2): 67.06
Time of light exposure: 60 seconds; 30 seconds/buccal tooth surface; 30 seconds/lingual tooth surface
US
Power setting 3 (240 μm; 6,000 Hz; 71 dB(A))
Contact accessory tip: SONICflex scaler no.5
Application from coronal to apical direction in sweeping motion

PS: Photosensitizer (Methylene blue, MB).

parameters used in this study. During laser application, the patient, the operator, and dental assistants wore safety glasses to protect their eyes.

Patients received four sessions of PDT (with a 15-day interval between sessions) then, reminder sessions at 3, 6, and 9 months, with microbiological and immunological sampling and clinical assessment [total of seven sessions] (Fig. 1).

Group 2: ultrasonic scaler treatment (control group). All patients in group two received oral prophylaxis with an US. Briefly, adhered plaque was removed with ultrasonic instrumentation (sonic SONICflex 2003L KaVo Dental, Germany) and a universal accessory tip [SONICflex scaler no.5] (Table 1) (Fig. 2C). The session finished when an experienced operator judged that the adhered plaque had been completely removed. Patients received seven sessions with the US, following the same dosing regimen as for PDT treatment (Fig. 1).

Monitoring and Assessment Timeline

Clinical assessment. At the beginning of the study before clinical monitoring took place, the examiner underwent probing depth calibration training. The examiner evaluated five patients, not related to the study, in two separate sessions 48 hours apart. Calibration was accepted if measurements at baseline and at 48 hours were within one millimeter of each other, with a >90% confidence level.

After calibration, the blinded operator performed all clinical assessments [probing depth (PD), plaque index (PI) and GI] [16,17]. These clinical parameters were recorded immediately before the initial administration of group 1 and group 2 interventions and at the start of the 3-, 6-, and 9-month follow-up visits (Fig. 1).

PD was measured to the nearest millimeter from the gingival margin to the base of the gingival sulcus; recorded probing depth was measured with a manual periodontal probe (UNC 15, Hu-Friedy Co., Chicago, IL) at six sites on each tooth: mesiobuccal, buccal, distobuccal, distolingual, lingual, and mesiolingual.

PI and GI were calculated according to the criteria described by Silness & Löe and Löe, respectively [16,17] by exploring the gingival unit at four sites: mesio-buccal, mid-buccal, disto-buccal, and mid-lingual. PI [16] was categorized as follows: 0 = no plaque; 1 = sparse accumulation of plaque deposits visible with magnifying glasses; 2 = moderate accumulation of plaque deposits which can be seen with the naked eye; 3 = heavy accumulation of soft material filling the niche between the gingival margin and tooth surface. GI [17] was assessed as follows: 0 = normal gingival, no inflammation, discoloration, or bleeding; 1 = mild inflammation, slight color change, mild alteration of gingival surface, no bleeding on pressure; 2 = moderate inflammation with edema and redness, swelling, bleeding on pressure; 3 = severe inflammation with marked edema and redness, swelling, tendency to spontaneous bleeding, perhaps ulceration.

Subgingival plaque sample collection and microbiological culture. To prevent contamination by blood, subgingival plaque was always collected before taking clinical measurements at each of the four specified time-points (start of the clinical trial and at 3, 6, and 9 months) (Fig. 1). Plaque samples were obtained from the sulcus with the deepest probing depth in each quadrant, so that four different samples of gingival sulcus were taken from each patient (third molars were excluded to prevent salivary contamination).

Once the site was isolated with cotton rolls (Hartmann N.1), supragingival plaque was removed with a curette (Hu Friedy, Chicago, IL) without touching the marginal gingiva for proper extraction of the sample. The gingival sulcus was dried with an air syringe and samples of subgingival microbiota were collected by inserting two sterile paper points N30 (Dentsply) into the deepest part of the periodontal sulcus for 30 seconds, avoiding possible contamination with saliva and blood.

After sampling, sterile paper points from each site were inserted into sterile vials with screw caps containing 1.5 ml of RTF and transferred to the Microbiology Laboratory at the Dental School, UCM, Madrid.

Microbiological culture analysis was carried out 2 or 3 hours after sampling. Briefly, subgingival plaque samples were vortexed for 30 seconds to achieve a homogeneous suspension. Serial 1/10 dilutions (10^{-0}, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}) of bacterial suspension in PBS medium (phosphate buffered saline) were made before the samples were processed. For this, 0.1 ml was taken from the vial and dispersed into a tube with 0.9 ml of phosphate buffered saline (PBS) (10^{-1}). Next, 0.1 ml was taken from the tube and added to another one containing 0.9 ml of PBS (10^{-2}), and the process was repeated until there were 10^{-4} dilutions, as specified. A total of 0.1 ml volumes of dilutions 0 and 1 were dispensed into a selective culture medium to determine the presence of *Agreggatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), and 0.1 ml volumes of dilutions 2, 3, and 4 into blood agar medium to determine the presence of *Porphyromonas gingivalis (Pg), Prevotella intermedia (Pi), Micromonas micros (Mm), Fusobacterium nucleatum (Fn), Tannerella forsythia (Tf)*, *Campylobacter rectus (Cr)*, *Eikenella corrodens (Ec)*, *Capnocytopaga sp. (Csp).*

The Dentaid medium for Aa was incubated for 2–3 days at 37°C in 5% CO_2 candle jars [18]. Morphological identification of Aa was carried out 2 days after seeding. The catalase test was used to confirm the presence of Aa, with the addition of 3% H_2O_2, which only produces bubbles if positive.

Blood agar medium (Oxoid no.2, Oxoid Ltd, Basingstoke, UK) with 5% horse blood and 5% hemin and menadione solution was incubated for 7 days at 37°C in anaerobic jars with 80% N_2, 10% H_2, and 10% CO_2. Gram staining was used to count the different morphological types and to confirm whether they were bacilli or cocci, gram-positive or gram-negative. Biochemical (BIG) tests were carried out to confirm identification. Some slower growing species required incubation for a further 7 days. Then, 14 days after the plates were inoculated, total colonies were counted to determine the total colony-forming units per milliliter (CFU/ml). This value was decimal logarithm transformed (log CFU).

Gingival crevicular fluid collection and immunology multiplex assay. Samples of GCF were taken from every patient at each of the four specified timepoints (start of the clinical trial and at 3, 6, and 9 months) (Fig. 1) to determine variations in the levels of six cytokines (IL-1β, IL-1ra, IL-6, IL-10, TNF-α, and FGF-2 (FGF basic) by Luminex assay; Ref: HCYTOMAG-60K-06; MILLIPLEX®-MAP-Human Cytokine/Chemokine Panel 1, Merck Millipore, Billerica, MA).

Samples were taken from locations with the greatest PD, near those selected for subgingival plaque samples (and sampling the same location, in each patient, at each follow-up), excluding the third molars. GCF was collected with commercially available paper strips (Periopaper, Oraflow Inc., Plainview, NY), which were inserted into the gingival crevice until mild resistance was felt, then left in place for 30 seconds. The volume of collected GCF was measured with a Periotron 8000 (Oraflow Inc.) (previously calibrated using human serum as calibrant and fitting the data with fourth order polynomial regression) [19]. The periopaper strips were then placed in sterile Eppendorf vials with a filter and stored at −80°C until required for analysis. Samples contaminated with blood or saliva were discarded.

Samples were analyzed in duplicate using multiplex map human high sensitivity immunoassays (Merck Millipore, Billerica, MA) using the Luminex-200 analyzer and XY plate handling platform (Luminex Corporation, Oosterhout, the Netherlands). For this, 100 μl of phosphate buffer (pH = 7) with protease inhibitor (Complete Mini Cocktail tablets, Roche, ref: 11 836 153 001), 0.05% PMSF (Phenylmethylsulfonyl fluoride) (200 mM), and 0.5% of BSA (Bovine Serum albumin) was added to the periopaper. This mixture was incubated at room temperature for 30 minutes. After that, the Eppendorf tubes were centrifuged for 10 minutes at 10,000 rpm and the filters with the periopapers were discarded. Calibration for microsphere classification and reporter readings as well as sheath fluid were also supplied by Luminex Corporation. Data were analyzed with xPonent software (Luminex Corporation) and expressed as level of each inflammatory biomarker/volume of GCF (pg/μl).

Statistical Analysis

The Shapiro–Wilk test was used to check assumptions of normality for the tested variables. Thus a two-factor repeated measures ANOVA was used (with an intrasubject factor (time) and an intersubject factor (treatment)). Post-hoc corrections to intergroup comparisons were tested by Student's *t*-test with the Bonferroni correction. For intragroup comparisons, ANOVA with multiple rank test were used to identify differences between successive follow-ups. Statistical analysis was performed with a SPSS software package for Windows (version 17.0; SPSS, Chicago, III), a *P*-value of <0.05 was considered as statistically significant.

RESULTS

Of the 22 patients initially enrolled in the present study, 20 completed the 9-month study. Two patients were excluded after failing the first follow-up. No complications such as abscesses or infections were found during the study period, and the interventions were well tolerated and fitted in well with orthodontic treatment.

Both preventive treatments applied in the present work showed reductions in clinical periodontal scores (PI, GI, and PD) (Fig. 3A–C), counts of specific periodontopathogens (total bacteria and Pg and Pi) (Fig. 4A–E and Table 2) and key inflammatory mediator levels (IL-1β, IL-10, and TNF-α) (Table 3).

The progression of clinical periodontal indices (PI, GI, and PD) from baseline through the 3-, 6-, and 9-month follow-ups is summarized in Fig. 3. PI values showed the same trend in both groups, with a statistically significant decrease ($P < 0.05$) at 3 and 6 months compared to baseline (Fig. 3. A). Likewise, GI and PD values (Fig. 3B and C, respectively) showed statistically significant decreases in both groups at 3 months compared to baseline. In the PDT group, the decrease in GI and PD values was observed over the whole course of the study period, while in the US group

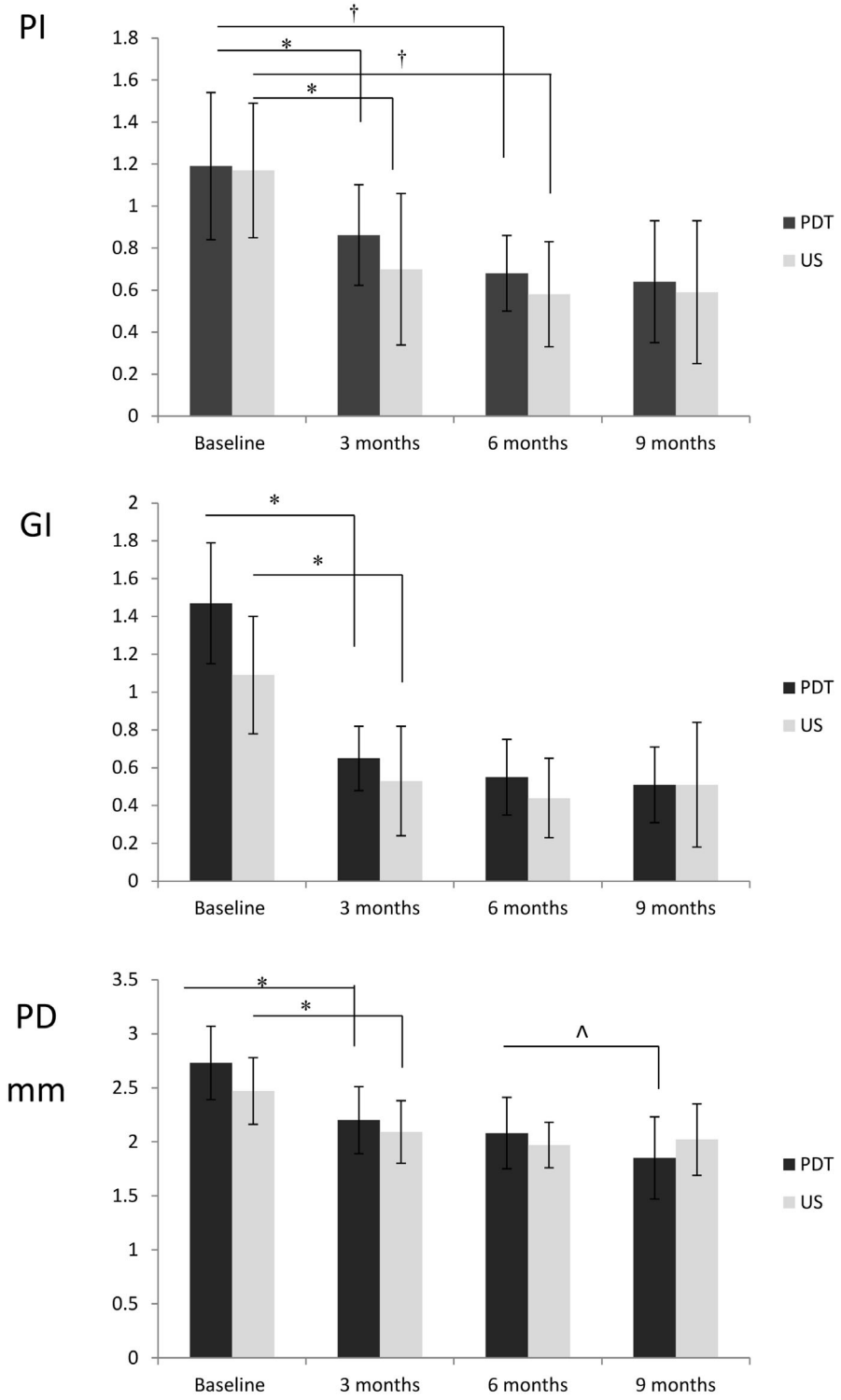

Fig. 3. Representative graph showing clinical parameter monitoring at start and at 3, 6, and 9 months in the US and PDT groups. (**A**) plaque index (PI) monitoring; (**B**) gingival index (GI) monitoring; (**C**) probing depth (PD) monitoring. Mean Scores (±SD), ($n = 10$ patients/group); (*) Significant *intragroup* differences at 3-month follow-up with respect to baseline; (†) Significant *intragroup* differences at 6-month follow-up with respect to baseline; (^) Significant *intragroup* differences at 9-month follow-up with respect to 6-month follow-up. No statistically significant differences were detected for any of the clinical outcome measurements between PDT and US groups at any of the evaluation times.

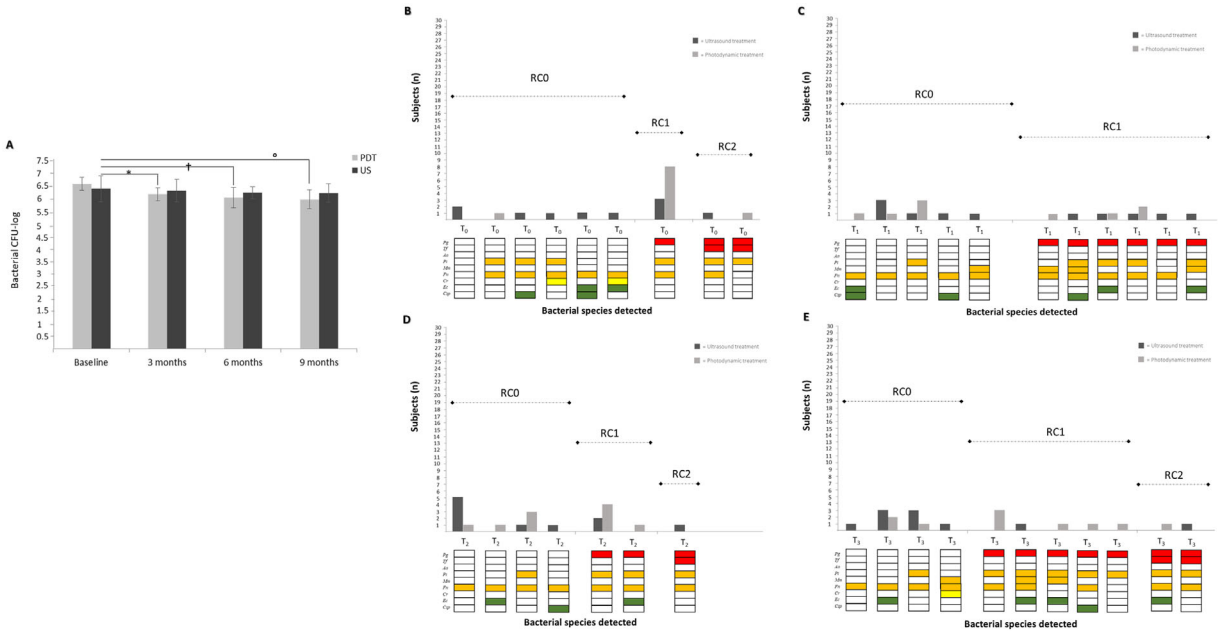

Fig. 4. Graphical representation of oral microbiota progression in both experimental groups. (**A**) Decimal logarithm-transformed colony-forming units (log CFU) of total periodontopathogenic flora. Mean Scores (±SD), ($n = 10$ patients/group) at baseline, and at 3-, 6-, and 9-month follow-ups; (*) Significance of *intragroup* differences compared to baseline at 3-month follow-up; (†) Significance of *intragroup* differences compared to baseline at 6-month follow-up; (°) Significance of *intragroup* differences compared to baseline at 9-month follow-up. No statistically significant differences were detected for any bacteria counts between PDT and US groups at any of the evaluation times. (**B**) Distribution of microbiological complexes within both treatment groups, PDT and US, at baseline, and at 3-, 6-, and 9-month follow-ups. The color represents the different complexes described by Socransky et al. (1998) [55]. RC0: none of the pathogens of the "red complex" present; RC1: one of the pathogens of the "red complex" present; RC2: two of the pathogens of the "red complex" present.

a slight upturn was observed at the 9-month follow-up. Nevertheless, no statistically significant intergroup differences were found for the three clinical parameters analyzed (Fig. 3).

The results of the effect of PDT and US on subgingival microflora during the experimental period are shown in Figure 4. A.E. The reduction in mean total log CFU of periodontopathogenic bacteria at each follow-up was more marked in the PDT group, although there were no statistically significant differences in absolute terms between the two treatment modalities at any time point. PDT treatment showed a significant reduction of total log

TABLE 2. Colony-Forming Units (log CFU) of *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia*, and *Fusobacterium nucleatum*: at Baseline and at 3-, 6-, and 9-Month Follow-Ups

Periodonto-pathogens[a]	Treatment type	Baseline mean ± SD	3 months mean ± SD	6 months mean ± SD	9 months mean ± SD
Pg	PDT	4.73 ± 1.91	2.32 ± 2.30*	1.67 ± 1.60	3.10 ± 2.18**
	US	4.56 ± 0.58	1.93 ± 1.90*	2.00 ± 1.95	3.89 ± 2.15**
Pi	PDT	4.32 ± 1.02	2.60 ± 2.26*	2.73 ± 2.07	3.02 ± 2.11
	US	4.37 ± 1.72	2.69 ± 1.99*	2.61 ± 1.91	3.38 ± 1.72
Fn	PDT	4.45 ± 1.66	4.51 ± 1.62	4.51 ± 0.43	4.00 ± 0.91
	US	4.68 ± 0.61	5.03 ± 0.88	4.78 ± 0.53	4.65 ± 0.51

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; *Pi*, *Prevotella intermedia*; *Fn*, *Fusobacterium nucleatum*; PDT, photodynamic therapy; US, ultrasonic scaler; SD, standard deviation;

[a]Most prevalent periodontopathogens selected from the nine analyzed species. Aa was not detected in any of the patients included in the RCT.

*Significant difference from baseline to 3 months ($P < 0.05$).

**Significant difference from 6 months to 9 months ($P < 0.05$). No statistically significant differences were detected for any bacteria counts between PDT and US groups at any of the evaluation times.

TABLE 3. Levels of Interleukin 1 beta, Interleukin 10, Tumor Necrosis Factor Alpha, Interleukin 6, Interleukin-1 Receptor Antagonist, and Fibroblast Growth Factor 2 in GCF at Baseline and at 3-, 6-, and 9-Month Follow-Ups

GCF Biomarker	Treatment type	Baseline mean ± SD (pg/μl)	3 months mean ± SD (pg/μl)	6 months mean ± SD (pg/μl)	9 months mean ± SD (pg/μl)
IL-1β	PDT	47.79 ± 46.33	19.79 ± 18.81*	16.83 ± 15.89	22.00 ± 12.38
	US	35.74 ± 24.18	18.29 ± 15.49*	13.79 ± 11.92	16.69 ± 11.11
IL-10	PDT	8.32 ± 4.31	5.63 ± 4.06*	3.74 ± 0.91**	2.38 ± 1.03***
	US	7.24 ± 3.23	6.55 ± 2.12	3.13 ± 0.75**	2.53 ± 1.47***
TNF-α	PDT	4.64 ± 2.56	4.16 ± 3.36	4.70 ± 2.61	2.37 ± 1.62****
	US	5.07 ± 2.62	5.92 ± 4.51	5.39 ± 3.48	2.87 ± 1.73****
IL-6	PDT	8.88 ± 8.84	5.69 ± 5.40	6.15 ± 4.68	6.42 ± 5.10
	US	6.62 ± 6.57	5.57 ± 5.14	5.71 ± 5.38	6.16 ± 5.51
IL-1ra	PDT	43583.80 ± 18881.42	41099.48 ± 40339.25	42677.43 ± 21827.49	44034.75 ± 23059.08
	US	56015.24 ± 55904.65	49256.96 ± 48338.08	57853.46 ± 57263.80	53773.61 ± 52220.63
FGF-2	PDT	10.03 ± 6.56	10.78 ± 9.68	13.20 ± 3.51	13.36 ± 10.20
	US	7.93 ± 3.02	9.03 ± 7.23	18.28 ± 5.35	13.92 ± 9.38

GCF, gingival crevicular fluid; PDT, photodynamic therapy; US, ultrasonic scaler; IL-1β, interleukin 1beta; IL-10, interleukin 10; TNF-α, tumor necrosis factor alpha; IL-6, interleukin 6; IL-1ra, interleukin-1 receptor antagonist; FGF-2, fibroblast growth factor 2; SD, standard deviation.

*Significant difference from baseline to 3 months ($P < 0.05$).

**Significant difference from baseline to 6 months($P < 0.05$).

***Significant difference from baseline to 9 months ($P < 0.05$).

****Significant difference from 6 months to 9 months ($P < 0.05$). No statistically significant differences were detected for any protein marker levels between PDT and US groups at any evaluation times.

CFU at 3, 6, and 9 months compared to baseline. With the US treatment however, the difference in reduction of total log CFU after the three follow-up sessions was not statistically significant (Fig. 4A–E).

Specifically, Table 2 shows the evolution of log CFUs of the three most prevalent periodontopathogens (*Pg*, *Pi*, and *Fn*) during this clinical study. Log CFU counts of *Pg*, *Pi*, and *Fn* followed similar trends under both treatments tested. A significant reduction in the log CFU of *Pi* and *Pg* was observed in both groups at the 3-month follow-up, and to a greater extent in the PDT group ($P > 0.05$). Between the 3- and 6-month follow-up, the log CFU count of *Pg* decreased, although a tendency to return to baseline values was observed after 9 months. With respect to *Pi*, the log CFU counts remained constant between the third and the ninth month. The log CFU count for *Fn* in both treatment groups remained constant and statistically significant intragroup differences were not observed. Summing up, in terms of the three periodontopathogen counts, statistically significant differences between the PDT and US treatments were not observed during the experimental period (Table 2).

Table 3 shows the progression in the levels of immune-inflammatory cytokines during the study following US and PDT treatment. In this respect, IL-1β levels in GCF decreased significantly in both treatment groups at the 3-month follow-up, with a further decrease at 6 months, but increased again after 9 months. IL-10 levels in GCF decreased steadily throughout the study period in both treatment groups, with significant reductions ($P < 0.05$) detected at 3, 6, and 9 months with respect to baseline levels in the PDT group, and at 6 and 9 months compared to baseline in the US group. TNF-α levels in GCF remained stable until 6 months, then decreased significantly at 9 months with respect to 6 months in both treatment groups (Table 3). Both the PDT and US groups displayed stable IL-6 and IL-1ra levels during the experimental period, yielding no statistical significant intra- or inter-group differences. The levels of FGF-2 (FGF basic) increased progressively with respect to baseline after both experimental interventions, particularly in the US group, although there were no statistically significant intra- or intergroup differences (Table 3).

DISCUSSION

While there are numerous studies on the effects of PDT as monotherapy or as adjunctive therapy to scaling and root planing (SRP) in the treatment of periodontal disease [20–25], there is only one study on the periodontal effects of PDT in adolescents with fixed orthodontic treatment [13]. Published literature on the effects of PDT or US treatments as nonsurgical periodontal therapies can be used as a support to prudently discuss the results here obtained, taking into account that the selected population did not show clear clinical sings of established gingivitis.

The present clinical study was specifically designed to evaluate and compare the effects of two experimental therapies, PDT and US, on periodontal health (PI, GI, PD), the composition of pathogenic oral microflora, and the secretion levels of target immunological biomarkers in young patients treated with fixed orthodontic appliances. Clinical results showed that both therapies were effective in improving periodontal health outcomes, and even up to 9 months with PDT, which obtained slightly better results than US in terms of decrease of GI and PD. Other authors

have likewise remarked on the clinical improvements in periodontal health after PDT treatment versus conventional scaling methods in short population size (20 patients approx.) affected with chronic periodontitis [20,21]. In this respect, recent systematic reviews and meta-analyses concluded that use of PDT, whether as adjunctive therapy or unique treatment, was associated with significant improvements in attachment gain after 12 weeks [0.29, 95%CI 0.08–0.50, $P = 0.007$] and greater reduction in probing depth [0.11, 95%CI: −0.12–0.35, $P = 0.35$] in patients already affected with periodontal disease [22,23]. The present study aimed not only to assess the clinical effects, but also to provide further insights into microbiological and protein biomarker responses underlying clinical changes in young patients under orthodontic treatment after PDT or US preventive treatments. On this particular point, although the reduction in total periodontopathogenic flora observed between the groups was not statistically significant, it was more marked in the PDT group, particularly after 3 months. This may correlate with the substantial reduction of GI, along with the decreases in the two specific biomarkers in GCF (IL-1β and IL-10) (Table 3).

More importantly, it should be pointed out that the patients in the present study were young and free of any form of periodontitis, although they did present some degree of gingival inflammation caused by the orthodontic device. Although the latest generation of USs have improved patient comfort as well as efficient and effective plaque removal (faster than PDT), in our context, SRP or debridement are not necessary and PDT could represent a slight improvement on conventional methods, due both to its antimicrobial effects and the photobiomodulatory effect of the low power light used to excite the PS [21,24,26]. This last effect could restore cell biological balance improving the vitality conditions of the gingival tissue.

Most of the published literature focusing on the adjunctive use of PDT in periodontal disease has evaluated the effects of a single application of PDT after SRP treatment [21–23,27,28]. One example is Oliveira et al, who examined the short-term (3 months) clinical effects in 10 patients after a single dose of PDT [28]. The results of the present clinical trial offer new data about the effect of repeated applications of PDT in the short- (3 months) and mid-term (6 and 9 months) in a specific sub-cohort of patients. The data at these different timepoints are of critical interest when monitoring gingival health status in an orthodontic population, since gingival heath status is a dynamic phenomenon and represents a constant threat during the entire orthodontic treatment [4]. Available data so far suggest that adjunctive PDT in repeated doses could improve on some of the clinical results observed [29,30]. Consequently, the present study considered the use of repeated doses for US and PDT, and the results showed a remarkable effect over time deriving from repeated PDT regimens and the application of US.

Another sensitive critical point in terms of the resilience of the oral microbiota is the type of photosensitizing agent used in PDT. Methylene blue, which was used in the present clinical trial, is extremely effective for the inactivation of both gram-positive and gram-negative periodontopathogenic species. This is of great importance since the gram-negative microorganisms analyzed here, *Pg*, *Pi*, and *Fn*, have shown great resistance against PDT compared with gram-positive bacteria because of differences in the outer membrane structures of the two types of bacteria [31]. While preserving the integrity of gingival tissue and preventing secondary gingival lesions [32] this type of photosensitizing agent has also been shown to play an important role in preventing re-colonization of specific periodontopathogens in periodontal lesions [33].

The microbiological results of the impact of the two treatments tested in this clinical trial showed that PDT treatment obtained slightly greater reductions in total periodontopathogenic flora. More specifically, substantial reductions in *Pg* (until the 6-month follow-up) and *Pi* (until the 3-month follow-up) were shown following PDT, while *Fn* remained constant throughout the period of analysis. It is well known that *Fn* can help recruit other pathogenic bacteria, and so contribute subsequently to the initiation and progression of periodontal disease [34]. Positive associations between *Fn*, *Pg*, *Pi*, and *Bacteroides forsythus* have been reported previously in sub-gingival plaque samples, while *Pi* has never been detected in any site without *Fn* also being present [35]. The results of the present study might indicate that the constant presence of *Fn* during the study favored re-colonization, first by *Pi,* then by *Pg*. The rate of re-colonization in the PDT group was slower than in the US group. Importantly, with respect to the presence of *Pg*, which is considered, with Aa [36], to be a critical species in destructive periodontal disease, a significant reduction in the log CFU of *Pg* was observed until the 6-month follow-up, correlating with reduced gingival inflammation. Data from the present study showed reductions in both parameters between baseline and 6 months after both PDT and US treatments tested. PDT showed 64.7% and 62.5% reductions in log CFU of *Pg* and GI, respectively, and US treatment showed 56.1 and 59.6% reductions in log CFU of *Pg* and GI, respectively. Trends similar to those found in the present research between *Pg* and GI have been described previously by other authors [37].

The performance effects of conventional ultrasonic debridement versus a single application of PDT in persistent pockets of maintenance patients have been compared previously. The authors reported that microbial counts in both treatment groups returned to baseline values in the short-term (3 months)[20], which reinforces the notion that repeated sessions of PDT are required to achieve proper periodontal health status over a longer period. A significant reduction in pathogenic microbiota reduces pathogenic host immune responses, interferes with the immunostimulatory function of antigen-presenting cells, inactivating proinflammatory mediators and so reducing inflammation and bleeding [38,39]. Bacterial metabolites stimulate monocytes/macrophages, lymphocytes and other types of cell (fibroblasts and endothelial cells) to secrete cytokines that regulate inflammatory and immune responses. Gram-negative anaerobic rods are the

most pathogenic species of the subgingival microflora. Lysis of the outer membrane of Gram-negative bacteria by conventional antimicrobial agents results in the release of the lipopolysaccharide (LPS) inducing local inflammation. Because of the ability of PDT mediated by MB to reduce their key virulence factors such as LPS and proteases in the early stages of the immune cascade, its use may, as a result, reduce a number of inflammatory mediators that promote tissue loss associated with periodontal disease [40]. In the case of US, inflammation is reduced by the disruption and physical removal of dental biofilm by cavitation methods that may induce tissue damage of a more invasive nature due to the therapeutic method itself [41]. Differences in the combined microbiome and protein biomarker profiles of individuals with periodontitis and healthy subjects have been described [7,42]. The present clinical trial also aimed to determine the effects of protein levels, by monitoring a subset array of immunomodulatory mediators [28,30,38,43] in regulating tissue damage and host response, as previously published [44].

In the present study, IL-1β levels in GCF decreased to a greater extent in patients in the PDT group compared to those in the US group. In the same connection, several studies have shown that clinical inflammation decreased in parallel with levels of IL-1 in GCF [45]; more specifically, some authors concluded that in some patients the levels of IL-1β in GCF were higher in sites of gingivitis compared to healthy sites [46]. Significantly increased levels of IL-1β have been shown after *de novo* mucosal inflammation associated with plaque accumulation in the GCF of associated teeth [47]. Recent evidence has shown similar trends in IL-1β and TNF-α reduction after treating periodontitis lesions with two types of laser radiation [48]. On this point, it has been reported that *de novo* plaque accumulation does not induce changes in TNF-α levels after a 21-day period of induced gingivitis [47]. Furthermore, in terms of TNF-α secretion levels, the effects of periodontal treatment did not show clear differences between treated *vs* non-treated patients after 12 months [29,31,44]. Coinciding with this scientific evidence, the present study found that TNF-α levels remained stable during the first 6 months after treatment with both therapies, and decreased after 9 months of monitoring, also in both US and PDT groups. Likewise, the values of IL-10 in GCF obtained during the present study decreased during the period of evaluation with both interventions tested. Nevertheless, clear evidence about IL-10 secretion levels has not yet been presented in terms of the presence/absence of gingival inflammation, since IL-10 has been detected in both healthy and inflamed human GCF [49,50].

Other critical biomarkers of gingival inflammation are IL-1ra and IL-6, whose secretion correlates directly with active inflammation [51,52]. The results of the present study showed that both IL-1ra and IL-6 remained stable during the study in both treatment modalities tested in this orthodontic context, while a slight parallel increase was observed in levels of FGF-2 (FGF basic) was observed. FGF-2 induces the regeneration of periodontal tissue, including osteogenesis and cementogenesis [53]. Franco et al. showed that PDT in conjunction with conventional dental scaling for periodontal treatment led to increased expression of FGF-2, which favored the regeneration of periodontal tissue [54]. The results of the present work also showed increased levels of FGF-2 (FGF basic) in GCF until the 6-month follow-up in the US group, and the 9-month follow-up in the PDT group.

Clinical studies simultaneously and extensively evaluating the clinical, microbiological, and immunological impact of PDT and other preventive methods in the treatment of gingivitis during orthodontic treatment are still very scarce. Our study presents for the first time useful comparative clinical, microbiological, and protein marker data, recording the effects of two well-described therapies in the context of periodontal health maintenance on a subset of strictly controlled orthodontic patients. Although both two treatments resulted in clinical, microbiological and immunological improvement, the clear superiority of one procedure over the other could not be demonstrated. In the context of maintenance care, both procedures are well tolerated with no side effects even when repeated multiple times. Consequently, both procedures have therapeutic potential.

CONCLUSIONS

The present clinical trial led to the conclusion that both PDT and ultrasonic scaling are safe and effective treatment methods for gingival inflammation induced by fixed orthodontic appliances. In terms of clinical, microbiological, and anti-inflammatory outcomes, PDT was slightly more effective than the implementation of the US, allowing the extension of the benefits for a longer period. PDT could therefore be consolidated as a new safe therapeutic alternative for supportive periodontal maintenance routines in patients treated with orthodontic fixed appliances.

REFERENCES

1. Verrusio C, Iorio-Siciliano V, Blasi A, Leuci S, Adamo D, Nicolò M. The effect of orthodontic treatment on periodontal tissue inflammation: A systematic review. Quintessence Int 2018;49(1):69–77.
2. Mártha K, Mezei T, János K. A histological analysis of gingival condition associated with orthodontic treatment. Rom J Morphol Embryol 2013;54(3 suppl):823–827.
3. Su Y, Chen C, Guo L, Du J, Li X, Liu Y. Ecological balance of oral microbiota is required to maintain oral mesenchymal stem cell homeostasis. Stem Cell 2017;36(4):551–561.
4. Antoun JS, Mei L, Gibbs K, Farella M. Effect of orthodontic treatment on the periodontal tissues. Periodontol 2000 2017; 74(1):140–157.
5. Martignon S, Ekstrand K, Lemos M, Lozano M, Higuera C. Plaque, caries level and oral hygiene habits in young patients receiving orthodontic treatment. Comm Dent Health 2010; 27(3):133–138.
6. Krishnan V, Ambili R, Davidovitch Z, Murphy NC. Gingiva and orthodontic treatment. Semin Orthod 2007;13:257–271.
7. Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the oral microbiota in health: Mechanisms that prevent dysbiosis. J Dent Res 2018;97(4):371–380.
8. Schwarz F, Aoki A, Becker J, Sculean A. Laser application in non-surgical periodontal therapy: A systematic review. J Clin Periodontol 2008;35(s8):29–44.
9. Yin R, Hamblin MR. Antimicrobial photosensitizers: Drug discovery under the spotlight. Curr Med Chem 2015; 22(18):2159–2185.

10. Pfitzner A, Sigusch BW, Albrecht V, Glockmann E. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. J Periodontol 2004;75(10):1343–1349.
11. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. J Dent Res 2007;86(8):694–707.
12. Jori G, Fabris C, Soncin M, et al. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: Basic principles and perspective applications. Lasers Surg Med 2006;38(5): 468–481.
13. Paschoal MA, Moura CM, Jeremias F, et al. Longitudinal effect of curcumin-photodynamic antimicrobial chemotherapy in adolescents during fixed orthodontic treatment: A single-blind randomized clinical trial study. Lasers Med Sci 2015;30(8):2059–2065.
14. Panhóca VH, Esteban Florez FL, Corrêa TQ, Paolillo FR, de Souza CW, Bagnato VS. Oral decontamination of orthodontic patients using photodynamic therapy mediated by blue-light irradiation and curcumin associated with sodium dodecyl sulfate. Photomed Laser Surg 2016;34(9):411–417.
15. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA 2013;310(20):2191–2194.
16. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odontol Scand 1964;22:121–135.
17. Loe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. J Periodontol 1967;38(6): Suppl 610–616.
18. Alsina M, Olle E, Frias J. Improved, low-cost selective culture medium for Actinobacillus actinomycetemcomitans. J Clin Microbiol 2001;39(2):509–513.
19. Chapple ILC, Landini G, Griffiths GS, Patel NC, Ward RSN. Calibration of the Periotron 8000® and 6000® by polynomial regression. J Periodont Res 1999;34:79–86.
20. Rühling A, Fanghänel J, Houshmand M, et al. Photodynamic therapy of persistent pockets in maintenance patients—A clinical study. Clin Oral Investig 2010;14(6):637–644.
21. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: A randomized clinical trial. J Clin Periodontol 2008;35(10):877–884.
22. Atieh MA. Photodynamic therapy as an adjunctive treatment for chronic periodontitis: A meta-analysis. Lasers Med Sci 2010;25:605–613.
23. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Marzo G, Monaco A. Photodynamic therapy in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. Lasers Med Sci 2013;28(2):669–682.
24. Lui J, Corbet EF, Jin L. Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. J Periodontal Res 2011;46:89–96.
25. Borekci T, Meseli SE, Noyan U, Kuru BE, Kuru L. Efficacy of adjunctive photodynamic therapy in the treatment of generalized aggressive periodontitis: A randomized controlled clinical trial. Lasers Surg Med 2018; DOI: 10.1002/lsm. 23010
26. Calderín S, García-Núñez JA, Gómez C. Short-term clinical and osteoimmunological effects of scaling and root planing complemented by simple or repeated laser phototherapy in chronic periodontitis. Lasers Med Sci 2013;28:157–166.
27. Polansky R, Haas M, Hesch A, Wimmer G. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. J Clin Periodontol 2009;36(7):575–580.
28. de Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB, Jr, et al. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: Cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results. J Periodontol 2009;80(1):98–105.
29. Lulic M, Leiggener Görög I, Salvi GE, Ramseier CA, Mattheos N, Lang NP. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: A proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. J Clin Periodontol 2009;36(8):661–666.
30. Moreira AL, Novaes Jr AB, Grisi MF, et al. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: A split-mouth randomized controlled trial. J Periodontol 2015;86(3):376–386.
31. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, et al. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. Periodontol 2000 2009;51:109–140.
32. Malgikar S, Reddy SH, Sagar SV, Satyanarayana D, Reddy GV, Josephin JJ. Clinical effects of photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to scaling and root planing of chronic periodontitis: A split-mouth randomized controlled clinical trial. Indian J Dent Res 2016;27(2): 121–126.
33. Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. Lasers Med Sci 2003;18:51–55.
34. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: Biofilms, interactions, and genetic systems. Annu Rev Microbiol 2000;54:413–437.
35. Signat B, Roques C, Poulet P, Duffaut D. Fusobacterium nucleatum in periodontal health and disease. Curr Issues Mol Biol 2011;13(2):25–36.
36. Slots J, Ting M. Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: Occurrence and treatment. Periodontol 2000 1999;20:82–121.
37. Pan S, Liu Y, Si Y, et al. Prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis on adolescent orthodontic patients. PLoS ONE 2017;12(11):e0188420.
38. de Oliveira RR, Novaes AB, Jr, Garlet GP, et al. The effect of a single episode of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of experimental periodontitis. Microbiological profile and cytokine pattern in the dog mandible. Lasers Med Sci 2011;26(3):359–367.
39. Séguier S, Souza SL, Sverzut AC, et al. Impact of photodynamic therapy on inflammatory cells during human chronic periodontitis. J Photochem Photobiol B 2010;101(3): 348–354.
40. Kömerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of Gram-negative bacteria. Photochem Photobiol 2000;72(5):676–680.
41. Vyas N, Pecheva E, Dehghani H, et al. High speed imaging of cavitation around dental ultrasonic scaler tips. PLoS ONE 2016;11(3):e0149804.
42. Zhou J, Yao Y, Jiao K, et al. Relationship between gingival crevicular fluid microbiota and cytokine profile in periodontal host homeostasis. Front Microbiol 2017;8:2144.
43. Koçak E, Sağlam M, Kayış SA, et al. Nonsurgical periodontal therapy with/without diode laser modulates metabolic control of type 2 diabetics with periodontitis: A randomized clinical trial. Lasers Med Sci 2016;31(2):343–353.
44. da Cruz Andrade PV, Euzebio Alves T, de Carvalho VF, et al. Photodynamic therapy decrease immune-inflammatory mediators levels during periodontal maintenance. Lasers Med Sci 2017;32(1):9–17.
45. Sanglam M, Kantarci A, Dundar N, Hakki SS. Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. Lasers Med Sci 2014;29(1):37–46.
46. Boronat-Catalá M, Catalá-Pizarro M, Bagán Sebastián JV. Salivary and crevicular fluid interleukins in gingivitis. J Clin Exp Dent 2014;6(2):e175–e179.
47. Schierano G, Pejrone G, Brusco P, et al. TNF-a, TGF-b2 and IL-1b levels in gingival and peri-implant fluid before and after *de novo* plaque accumulation. J Clin Periodontol 2008;35(6): 532–538.
48. Sağlam M, Köseoğlu S, Taşdemir I, Erbak Yilmaz H, Savran L, Sütçü R. Combined application of Er:YAG and Nd:YAG lasers in treatment of chronic periodontitis. A split-mouth, single-blind, randomized controlled trial. J Periodontal Res 2017;52(5):853–862.
49. Johannsen A, Bjurshammar N, Gustafsson A. The influence of academic stress on gingival inflammation. Int J Dent Hyg 2010;8(1):22–27.
50. Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. J Periodontol 2001;72(5):590–597.
51. Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and GCF levels of IL-1beta and IL-1ra in periodontal disease. J Clin Periodontol 2000;27(4):250–255.

52. Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. Expert Rev Mol Med 2013;15: e7.
53. Murakami S. Periodontal tissue regeneration by signaling molecule(s): What role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy? Periodontol 2000 2011;56(1):188–208.
54. Franco EJ, Pogue RE, Sakamoto LH, Cavalcante LL, Carvallo DR, Andrade RV. Increased expression of genes after periodontal treatment with photodynamic therapy. Photodiagn Photodyn Ther 2014;11(1):41–47.
55. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998;25:134–144.

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy 24 (2018) 377–383

Contents lists available at ScienceDirect

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt

Efficacy of photodynamic therapy vs ultrasonic scaler for preventing gingival inflammation and white spot lesions during orthodontic treatment

Clara Gómez[a,*], Rosa Abellán[b], Juan Carlos Palma[b]

[a] Institute of Physical Chemistry Rocasolano, CSIC, Serrano 119, 28006 Madrid, Spain
[b] Department of Dental Clinical Specialities, School of Dentistry, Complutense University of Madrid, Plaza Ramón y Cajal sn, 28040 Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
Photodynamic therapy
Ultrasonic scaler
Gingival inflammation
White spots
Orthodontics
Antimicrobial photodynamic therapy

ABSTRACT

Introduction: The complex designs of fixed orthodontic appliances hinder proper access for cleaning, favouring the development of gingival inflammation and white spot lesions around brackets. The aim of this study was to evaluate the effectiveness to avoid these undesirable effects by using two prophylactic methods: Photodynamic Therapy (PDT) and conventional ultrasonic scaler (US), in patients during fixed orthodontic treatment.
Materials and methods: Twenty patients under orthodontic treatment for at least 15 months were randomly divided into two groups: PDT mediated by methylene blue (MB) and US. Both treatments were applied in repeated doses (four times in intervals of 2 weeks in the beginning of the study (T0), with booster doses at 3, 6 and 9 months, T1, T2 and T3, respectively). Periodontal clinical parameters (full-mouth plaque score (FMPS), full-mouth bleeding score (FMBS) and probing depth (PD)) were recorded as well as the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) index. Samples of subgingival plaque and saliva (for determination of 4 periodontopathogens and mutans streptococci, respectively), were collected at T0 and at the follow-ups of T1, T2 and T3.
Results: The evolution of FMPS, FMBS, PD, ICDAS scores as well as the counts of periodontopathogens and salivary mutans streptococci was similar after US or PDT implementation. Greatest periodontal scores reduction took place at T1 for FMBS and PD and at T2 for FMPS. Main microbial reduction took place at T1. ICDAS index began to increase from T2. No statistically significant *intergroup* differences were observed.
Conclusions: Additional treatment of PDT or US in repeated doses delayed undesired side effects during fixed orthodontic treatment in young patients with low caries risk and signs of gingival inflammation.

1. Introduction

The physical presence of intra-oral orthodontic devices generates difficulty of access to all dental and gingival areas, and therefore represents a challenge for achieve good brushing and optimal oral hygiene [1]. Restrictions in effective dental hygiene and the increased retention of dental plaque due the presence of brackets are the reasons for the high incidence of gingival inflammation and white spot lesions [2,3]. Therefore, it is very important to carry out exhaustive oral hygiene by means of a regular removal of dental plaque (either manually by using curettes or by mechanical instrumentation such as ultrasonic scalers (US) [4]), with concomitant use of chemical agents aiming to decrease the levels of cariogenic bacteria and prevent the apparition of tooth decay [5]. It is the responsibility of orthodontists to choose a suitable prophylactic system to prevent enamel demineralization and gingival inflammation. To improve effectiveness in the removal of the dental plaque, the use of laser radiation or photodynamic techniques has been expected to serve as an adjunct or alternative method [6].

Photodynamic therapy (PDT) involves the use of a photosensitizing agent called "photosensitizer" (PS) that is able to produce reactive oxygen species (ROS) when irradiated with light with appropriate wavelength in the presence of oxygen. After absorption of light, part of the energy is transferred to the triplet state in the PS molecule. Either charge (type I reaction) or energy (type II reaction) is transferred to a substrate or to molecular oxygen to generate ROS, singlet oxygen ($^1O_2$) being the specie that plays a major role. This highly reactive oxygen initiates further oxidative reactions in the near environment, such as the bacterial cell wall, lipid membranes, enzymes or nucleic acids, modifying metabolic activities in an irreversible way, which may result in cell death [7]. Benefits of PDT over conventional antimicrobial agents are a broad spectrum of action (the ability to promote cytotoxic activity against a wide variety of microorganisms), low mutagenic

* Corresponding author at: Institute of Physical Chemistry Rocasolano, Spanish National Research Council, CSIC, C/ Serrano 119, 28006 Madrid, Spain.
E-mail address: c.gomez@iqfr.csic.es (C. Gómez).

https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.11.001
Received 11 September 2018; Received in revised form 21 October 2018; Accepted 2 November 2018
Available online 03 November 2018
1572-1000/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

C1.3. DISCUSIÓN

En el estudio desarrollado en el presente capítulo, se han investigado dos métodos profilácticos con características muy diferentes como son la TFD y el tratamiento con ultrasonidos (US) para la prevención y tratamiento de los principales efectos secundarios derivados de la ortodoncia fija: la inflamación gingival y el desarrollo de caries. La TFD es una modalidad muy novedosa en la práctica ortodóncica mientras que el empleo de US es una herramienta tradicional en la primera etapa del tratamiento periodontal. Se han estudiado y comparado el efecto clínico, microbiológico e inmunomodulador de ambos métodos a través de un ensayo clínico aleatorizado.

En general, este tipo de ensayos está justificado cuando se quiere conocer la eficacia y seguridad de un nuevo método y poderlo comparar con otros aplicados habitualmente en clínica, para conocer si es capaz de ofrecer más beneficios que los que proporcionan los ya existentes. También y debido a que al método novedoso se le atribuye una "incrementada efectividad", es importante detectar efectos adversos, determinar que sujetos tienen mayor probabilidad de beneficiarse tras su aplicación o en qué grado pueden mejorar la calidad de vida en personas con enfermedades crónicas, todo ello evaluado de una forma reglada y controlada.

Por todo ello, el presente ensayo clínico aleatorizado fue diseñado específicamente para evaluar y comparar los efectos de dos terapias experimentales, TFD y US dental, sobre la salud periodontal (IP, IG, PS), la composición de la microflora oral patógena y los niveles de secreción de biomarcadores inmunológicos diana en el FCG en adolescentes tratados con aparatos de ortodoncia fijos.

La gingivitis ha sido identificada como una de las posibles complicaciones del tratamiento de ortodoncia por lo que es necesario estudiar exhaustivamente qué métodos emplear tanto para su prevención como para su tratamiento cuando ya se ha instaurado o producido. [276] Los estudios constatan que prevenir y tratar la gingivitis durante el tratamiento de ortodoncia, mejora la calidad de vida del paciente. [277] Teniendo en cuenta que el tratamiento de ortodoncia fija es un factor predisponente para la acumulación de biopelículas y, en consecuencia, para el desarrollo de gingivitis, [276,278] se hace necesario la introducción de terapias antimicrobianas para mejorar la salud oral.

Los pacientes que usan aparatos de ortodoncia fijos constituyen un grupo que puede beneficiarse del uso diario de enjuagues bucales. Varios estudios se han centrado en analizar como los colutorios pueden influir en el control del biofilm supragingival y la gingivitis en pacientes ortodóncicos. [279] La evidencia actual muestra que cuando se utilizan agentes químicos como complemento del cepillado y del hilo dental, aportan ventajas adicionales en comparación con solo el control mecánico, en lo que respecta a la reducción de la placa y la gingivitis. [280,281] Revisiones sistemáticas han demostrado la eficacia de los enjuagues bucales que contienen gluconato de clorhexidina, [282] aceites esenciales [282,283] y cloruro de cetilpiridinio. [284]

En pacientes sometidos a tratamiento de ortodoncia, la clorhexidina está indicada en el tratamiento de la inflamación gingival aguda, mientras que los aceites esenciales en el control de la biopelícula supragingival. [285] Es importante señalar que los enjuagues bucales que contienen clorhexidina se asocian con una mayor incidencia de efectos adversos, como manchas en los dientes y tejidos blandos, que limitan su uso a largo plazo. [282]

La utilización de ultrasonidos para el mantenimiento del estado periodontal y el control de placa es una práctica muy común. [286] La limpieza dental por ultrasonidos es uno de los procedimientos odontológicos más utilizado, mediante el cual se consigue eliminar el cálculo, la placa bacteriana y algunas manchas de la dentición. Su uso es muy importante para evitar la caries, así como afecciones periodontales que puedan dañar las encías y las estructuras óseas periodontales. Este procedimiento se realiza mediante ultrasonidos, que emite distintas vibraciones ultrasónicas con las que se desprende la placa o el cálculo acumulado en aquellas áreas inaccesibles para el cepillo dental.

Así mismo la higiene oral que siga cada paciente, como la técnica de cepillado, el uso de cepillo interdental, enjuague bucal y cepillarse correctamente los dientes ayuda a reducir la placa significativamente. [287,288]

El acceder a áreas difíciles en pacientes con aparato de ortodoncia, cuando estos presentan hipertrofia gingival, donde la encía suele cubrir la base del bracket y bandas, constituye sin lugar a dudas un gran desafío. En estos casos, se ha propuesto recientemente, el empleo de la TFD como tratamiento adyuvante, [289] siendo apropiada para aquellas áreas donde el alcance de la cureta es complicado, evitándose así también el empleo de US que puede posibilitar el desprendimiento de los brackets tal y como

han descrito Bonetti y cols. [290] Puntualizar, sin embargo, que en nuestro estudio se utilizó la terapia con US como método profiláctico para comparar su acción frente a la TFD y siguiendo un protocolo adecuado de uso, no se observó que se despegara ningún bracket a lo largo de todo el estudio como causa del uso del US.

Los dispositivos de ortodoncia fijos, como brackets, bandas, elásticos y sus respectivos materiales de fijación dental, como la resina y el cemento de vidrio ionómero, son factores predisponentes para la acumulación de biopelículas. Las superficies retentivas favorecen la agregación microbiológica y, por lo tanto, el desarrollo de procesos inflamatorios locales. [291,292] Para conseguir homogeneidad en nuestro estudio, se reclutó pacientes con una franja de edad similar (12-16 años), tratados ortodóncicamente con los mismos brackets metálicos convencionales para conseguir una oclusión de clase I molar y canina bilateral, con resalte y sobremordida correctos, así como resolver las rotaciones y apiñamiento. El mecanismo de estos brackets gemelares cuenta con una base de metal la cual se cementa al diente mediante composite. Tienen un slot donde se inserta el arco que se retiene en el bracket mediante ligaduras, que en nuestro caso fueron metálicas, para evitar favorecer el acúmulo de placa con ligaduras elásticas.

Recientes estudios han concluido que no hay diferencia comparando los microorganismos en saliva en sujetos tratados con brackets de diferentes materiales, [293] ni en cuanto a los tratados con dispositivos convencionales y de autoligado. [294] En cuanto a la salud gingival, los brackets cerámicos parecen tener mejores resultados, especialmente para pacientes adolescentes (grupo de edad que precisamente más se trata con ortodoncia fija multi-brackets). [295] También se ha observado que los brackets linguales alteran significativamente el microbioma de los pacientes y causan una mayor retención de placa e inflamación gingival asociada. [296]

La TFD se ha utilizado con éxito para tratar enfermedades periodontales, ya que ha demostrado ser efectiva para reducir el número de colonias o biopelículas y puede intensificar los resultados de los tratamientos mecánicos convencionales. [297,298] Existen numerosos estudios sobre los efectos de la TFD como monoterapia o como terapia complementaria para el raspado y alisado radicular (RAR) en el tratamiento de la enfermedad periodontal. [299-301] A este respecto, revisiones sistemáticas recientes y meta-análisis han concluido que el uso de TFD, ya sea como terapia complementaria o tratamiento único, se asocia con mejoras significativas en la pérdida de inserción y una

mayor reducción en la PS en pacientes ya afectados con enfermedad periodontal. [299,302] Todos estos estudios están sirviendo de base para que se inicien estudios sobre los efectos periodontales de la TFD en sujetos sometidos a tratamiento ortodóncico con signos de inflamación gingival. [289,303] En un estudio publicado hace poco, en adolescentes sometidos a tratamiento de ortodoncia tratados con TFD como complemento al raspado (TFD + raspado) y con raspado únicamente, se observó en todos ellos una reducción significativa en PS y SS a corto plazo (3 semanas). A medio plazo (6 semanas) los valores de SS e IP se redujeron significativamente en los tratados con TFD + raspado. Las conclusiones de este trabajo indican que la TFD complementaria, ayuda a mejorar los parámetros clínicos periodontales durante el tratamiento ortodóncico. [304] Recientemente, el protocolo publicado por Rosa y cols. en pacientes sometidos a tratamiento con aparatos fijos durante más de 12 meses y con signos de gingivitis, para ser tratados bien con TFD mediada por AM + RAR ó solo con RAR, pretende mejorar la calidad de vida y la adquisición de datos para consolidad a la TFD como método alternativo para el tratamiento de la gingivitis durante la ortodoncia fija multibrackets y como terapia primaria de elección en áreas difíciles de alcanzar. [289] En este aspecto, los resultados clínicos de nuestro estudio sobre adolescentes tratados con ortodoncia fija durante 12-15 meses, han mostrado que ambas terapias (TFD y US) son efectivas para mejorar los parámetros clínicos periodontales, respecto a los valores de IP, IG y PS. A corto y medio plazo la TFD, ha mostrado resultados ligeramente superiores que el US, pero sin llegar a mostrarse diferencias estadísticamente significativas entre las dos tipos de tratamiento.

La mayor parte de la literatura publicada sobre el uso complementario de la TFD en la periodontitis crónica, evalúa los efectos de una sola aplicación de TFD tras el tratamiento de RAR [299,302,305,306] mostrando que los resultados clínicos del RAR pueden mejorarse mediante una TFD co-adyuvante [299,302,305] Sin embargo, Polansky y cols. no observaron eficacia de esta terapia aplicada en una única dosis como complemento del tratamiento periodontal. [306] Para el tratamiento de la periodontitis agresiva, tanto el RAR como una única dosis de TFD generan los mismos efectos sobre los niveles creviculares de TNF-α y RANKL. [307]

En el campo ortodóncico y con pacientes sin enfermedad periodontal, sino con signos de inflamación gingival, Rosa y cols. han diseñado un protocolo para que todos los participantes del estudio reciban una sola sesión de tratamiento, con el objetivo de

verificar su viabilidad en la práctica clínica, sumado a un mantenimiento mensual general de ortodoncia. [289]

Los datos disponibles hasta el momento muestran que la TFD complementaria al tratamiento convencional no quirúrgico de la enfermedad periodontal, aplicada en dosis repetidas mejoran en todos los casos, los resultados clínicos observados. [308,309] En consecuencia, el presente ensayo clínico se diseñó considerando el uso de dosis repetidas para US y TFD, y los resultados mostraron un efecto notable a lo largo del periodo evaluado. De esta forma, los resultados aquí obtenidos ofrecen nuevos datos sobre el efecto de las aplicaciones repetidas de TFD a corto (3 meses) y medio plazo (6 y 9 meses) en un grupo específico de pacientes. Además, los datos en estos diferentes puntos de tiempo son de interés crítico para controlar el estado de salud gingival en una población de ortodoncia, ya que el estado de salud gingival representa una amenaza constante durante todo el tratamiento de ortodoncia. [44]

En el presente trabajo, se siguió un protocolo de TFD empleando una solución ya comercializada de AM a una concentración 0,005% (p/v). Para asegurar la irrigación completa de la porción apical de cada surco, aproximadamente 10µL de la solución se aplicaron directamente en cada surco empleando una aguja de irrigación, en donde se mantuvo durante 3 min, antes de ser fotoactivado con un láser de diodo de baja potencia (190mW) y longitud de onda de 670nm. Para permitir el acceso de la radiación láser al surco gingival, la pieza de mano acomoda una punta difusora de luz (desechable), configurada a modo de sonda periodontal, la cual es insertada en la parte más superficial del surco y se va desplazando lentamente a lo largo del mismo durante no más de 60 s/diente. Recientemente, Rosa y cols. han propuesto un protocolo de desinfección fotodinámica en pacientes ortodóncicos muy similar al nuestro: AM al 0,005% (p/v) activado con un láser de diodo de baja potencia (100 mW) y con una de longitud de onda de 660 nm. El AM se aplica en las pseudobolsas con una jeringa y se mantiene ahí 1 min antes de su fotoexcitación, la cual se lleva a cabo con un cabezal láser en contacto directo con la pseudobolsa, aplicando la luz en ocho puntos con hiperplasia. [289] En el estudio de Soares y cols. recientemente publicado, cuyo objetivo fue evaluar la eficacia de TFD en la reducción del número de UFCs del biofilm dental que recubre los brackets y las encías en pacientes ortodóncicos, se utilizó como fotosensibilizador un compuesto de fenotiazina (AM + TBO 1:1, 12,5 µg/mL). Se administraron 20 mL de la solución a cada paciente y se solicitó que realizasen un enjuague bucal con él durante 5 min

(tiempo de preirradiación) para permitir el contacto de la solución con la biopelícula oral. Para la fotoactivación se aplicó la luz roja procedente de una lámpara de LEDs con una longitud de onda de emisión aproximada de 640 nm, 110 mW, 30 J/cm^2. [310]

El sitio de localización subcelular del FS es importante en términos de fototoxicidad. [311] Se ha observado que la fotoactivación del AM causa daño en ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y membrana plasmática de los microorganismos. [275] Algunos estudios demuestran que el AM se localiza en los lisosomas [312] y tras la irradiación de la luz se reubica en el núcleo de la célula objetivo, [313] causando un efecto bactericida por el daño oxidativo del ADN. [314] Además, se ha demostrado que el efecto antimicrobiano la TFD tiene lugar en unos pocos minutos después de la fotoactivación con láser y que este efecto queda confinado en el sitio de la lesión. [222,315]

El AM es extremadamente efectivo para la inactivación de especies periodontopatógenas Gram positivas y Gram negativas. Esto es de gran importancia ya que los microorganismos Gram negativos analizados en el presente estudio, *P. gingivalis*, *P.intermedia* y *F.nucleatum*, han venido mostrado una mayor resistencia a la TFD, en comparación con las bacterias Gram positivas, debido a las diferencias en las estructuras de la membrana externa de los dos tipos de bacterias. [316] Soares y cols., han demostrado que el uso combinado de AM+TBO como solución fotosensibilizadora en TFD aplicada en pacientes tratados con ortodoncia ha mostrado eficacia, reduciendo las UFCs en un 90% en el biofilm que rodea los brackets y las encías de los incisivos centrales inferiores. [310]

Los resultados microbiológicos del impacto de los dos tratamientos probados en este estudio mostraron que el tratamiento con TFD obtuvo reducciones algo superiores (aunque no significativas) en la flora periodontopatógena total frente a US. Más específicamente, se mostraron importantes reducciones en *P. gingivalis* (a los 6 meses) y *P. intermedia* (a los 3 meses) tras la aplicación de TFD, mientras que *F. nucleatum* permaneció constante durante todo el estudio. Es bien sabido que *F. nucleatum* puede ayudar a reclutar otras bacterias patógenas, y así contribuir posteriormente al inicio y progresión de la enfermedad periodontal. [317] Las asociaciones positivas entre *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *Bacteroides forsythus* se han visto previamente en muestras de placa subgingival, mientras que *P. intermedia* nunca se ha detectado en ningún sitio sin que *F. nucleatum* esté también presente. [318] Los resultados

del presente estudio podrían indicar que la presencia constante de *F. nucleatum* durante el estudio favoreció la recolonización, primero por *P. intermedia* y luego por *P. gingivalis*. La tasa de recolonización en el grupo TFD fue más lenta que en el grupo de US. Es importante destacar que, con respecto a la presencia de *P. gingivalis*, que se considera, junto con *A. actinomycetemcomitans*, [319] como una especie destructiva crítica en la enfermedad periodontal, se observó una reducción significativa en el log UFC de *P. gingivalis* a los 6 meses de seguimiento, correlacionado con una reducción de la inflamación gingival. Los datos del presente estudio mostraron reducciones en ambos parámetros entre el inicio y los 6 meses posteriores a la aplicación de la TFD y US. La TFD mostró reducciones de 64,7% y 62,5% en el logaritmo decimal de UFCs (log UFC) de *P. gingivalis* y en el índice clínico IG, respectivamente, y el tratamiento en US mostró reducciones de 56,1 y 59,6% en log UFC de *P. gingivalis* e IG, respectivamente. Tendencias similares a las encontradas en la presente investigación entre *P. gingivalis* e IG han sido descritas previamente por otros autores. [320]

Una reducción significativa en la microbiota patógena reduce las respuestas inmunitarias del huésped patógeno, interfiere con la función inmunoestimuladora de las células presentadoras de antígeno, inactiva los mediadores proinflamatorios y, por lo tanto, reduce la inflamación y el sangrado. [321,322] Los metabolitos bacterianos estimulan los monocitos / macrófagos, linfocitos y otros tipos de células (fibroblastos y células endoteliales) para secretar citocinas que regulan las respuestas inflamatorias e inmunes. Las bacterias anaeróbias Gram negativas son las especies más patógenas de la microflora subgingival. La lisis de la membrana externa de bacterias Gram negativas por agentes antimicrobianos convencionales, da como resultado la liberación del lipopolisacárido (LPS), que inducen inflamación local. Debido a la capacidad de la TFD mediada por AM para reducir los factores clave de virulencia, como LPS y proteasas en las primeras etapas de la cascada inmune, su uso puede, reducir una serie de mediadores inflamatorios que promueven la pérdida de tejido asociada a la enfermedad. [323] En el caso del US dental, la inflamación se reduce por la interrupción y la eliminación física de la biopelícula dental mediante métodos de cavitación que pueden inducir un daño tisular de naturaleza más invasiva debido al método terapéutico en sí mismo. [324] Se han descrito algunos inconvenientes asociados al empleo de US: calentamiento del diente durante el raspado, posible daño plaquetario por cavitación, campos electromagnéticos asociados que pueden afectar al funcionamiento de los marcapasos y la generación de

aerosoles capaces de transmitir microorganismos patógenos, aunque siguiendo una serie de recomendaciones en cuanto a su uso, los riesgos se disminuyen, garantizando un funcionamiento seguro. [325]

Se han descrito diferencias en los perfiles combinados de microbiomas y mediadores proinflamatorios de individuos con periodontitis y sujetos sanos. [326,327] También hay estudios que evalúan mediadores proinflamatorios antes y después del tratamiento periodontal para determinar la eficacia del mismo. Da Cruz Andrade y cols., [271] con el fin de cuantificar el efecto de la TFD mediada por AM en pacientes con periodontitis crónica bajo mantenimiento periodontal, evaluaron parámetros clínicos e inmunológicos (IL-1α, IL-1β, IL-8, IL-1ra, IFN-γ e IL-10, FGF, IL-4 y TNF-α y VEGF). La aplicación de la TFD condujo a una buena mejoría de los parámetros clínicos periodontales, aunque no significativa respecto a la observada en el grupo control y mostró una significativa respuesta inmunomoduladora de IL-1α, IL-1β, IL-8 y VEGF, demostrando de esta forma que la TFD puede ser beneficiosa para el control de la inflamación durante el mantenimiento periodontal. Teymouri y cols. [328] mostraron que el tratamiento periodontal con TFD reduce los mediadores inflamatorios (IL-1β e IL-17) y mejora los parámetros clínicos, en especial IG. Recientemente, y ya en un contexto ortodóncico, Kamran y cols., [304] han evaluado el papel de la TFD complementaria al raspado en la mejora de los parámetros clínicos, microbiológicos e inmunológicos, en pacientes adolescentes sometidos a tratamiento de ortodoncia fija, durante el período de 6 semanas, concluyendo que la TFD ayuda a mejorar el SS, la carga microbiana (reducción de *P. gingivalis* y *P. intermedia*) y favorece la reducción de los mediadores pro-inflamatorios (IL-6 y TNF-α) en el surco gingival.

En el presente trabajo se cuantificaron un conjunto de inmunomoduladores, para evaluar la regulación del daño tisular y la respuesta del huésped al tratamiento, y, correlacionar estos resultados con los resultados clínicos y microbiologicos descritos anteriormente. De esta forma, se vieron que los niveles de IL-1β en FCG disminuyeron en mayor medida (aunque no significativa) en los pacientes del grupo de TFD en comparación con los del grupo de US. La IL-1β puede inducir la reabsorción ósea y la destrucción del tejido conectivo. Algunos estudios demuestran que el aumento de los niveles de IL-1β en el FCG está estrechamente relacionado con el aumento del IG y de PS, [329] y que la inflamación clínica disminuye de forma paralela a la disminución de los niveles de IL-1

en el FCG. [330] También ha sido demostrado que de manera general los niveles de IL-1β en el FCG son más altos en sitios de gingivitis en comparación con sitios sanos. [331]

La evidencia reciente ha mostrado tendencias similares en la reducción de IL-1β y TNF-α después de una terapia combinada con radiación láser Er:YAG y Nd:YAG en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica. Dicha combinación es beneficiosa a corto plazo, particularmente en áreas inaccesibles como las bolsas periodontales. [332] Además, con respecto a los niveles de secreción de TNF-α en el FCG, se ha demostrado, en varios estudios, que no existen diferencias entre los pacientes que recibieron tratamiento periodontal combinado con TFD y los que no, en ningún momento del estudio. [271,308,316] Coincidiendo con esta evidencia científica, nuestro estudio encontró que los niveles de TNF-α se mantuvieron estables durante los primeros 6 meses después del tratamiento con ambas terapias, y disminuyeron a los 9 meses, también en los dos grupos. Asimismo, los valores de IL-10 en FCG obtenidos durante el presente estudio disminuyeron durante el período de evaluación con ambas intervenciones. Sin embargo, todavía no se ha presentado evidencia clara sobre los niveles de secreción de IL-10 en términos de la presencia / ausencia de inflamación gingival, ya que se ha detectado IL-10 en FCG humano sano e inflamado. [333,334] Franco y cols. demostraron que la TFD junto con el RAR convencional, para el tratamiento periodontal, condujo a una mayor expresión de FGF-2, lo que favoreció la regeneración del tejido periodontal. [335] Los resultados del presente trabajo también mostraron mayores niveles de FGF-2 (FGF básico) en FCG en el seguimiento a los 6 meses en el grupo de US, y en el seguimiento a los 9 meses en el grupo de TFD.

El presente estudio tuvo como objetivo no solo evaluar los efectos clínicos, sino también proporcionar información adicional sobre las respuestas de biomarcadores microbiológicos y de proteínas que subyacen a los cambios clínicos en pacientes jóvenes bajo tratamiento de ortodoncia después de TFD o tratamientos preventivos con US. En este punto en particular, aunque la reducción en la flora periodontopatógena total observada entre los grupos no fue estadísticamente significativa, fue más marcada en el grupo de TFD, particularmente después de 3 meses. Esto puede correlacionarse con la reducción sustancial del IG, junto con las disminuciones en los dos biomarcadores específicos en FCG (IL-1β e IL-10). Debe señalarse, que los pacientes del presente estudio eran jóvenes y no tenían ningún signo de enfermedad periodontal,

aunque presentaban cierto grado de inflamación gingival causada por el aparato de ortodoncia. La TFD podría representar una ligera mejora frente a los métodos convencionales, debido tanto a su efecto antimicrobiano como al efecto fotobiomodulador ejercido por la fuente de luz empleada para fotoactivar al FS. [164,336] Este último efecto podría restaurar el equilibrio biológico celular mejorando las condiciones de vitalidad del tejido gingival, contribuyendo a una más rápida regeneración tisular en el proceso de reparación de los tejidos orales.

El presente estudio clínico también fue diseñado específicamente para evaluar y comparar los efectos de dos métodos profilácticos, TFD y US, en los mismos pacientes adolescentes con tratamiento ortodóncico fijo prolongado, para prevenir la aparición de la caries dental. La determinación de los niveles de *S. mutans* en saliva es un buen indicador de la caries dental, por lo que en el presente estudio además de registrarse dichos niveles, se registró el índice ICDAS. [337]

En nuestro estudio se recogieron muestras de saliva, para la determinación de *S. mutans*, antes de comenzar el tratamiento y en las re-evaluaciones a los 3, 6 y 9 meses. El recuento en saliva de UFCs de *S. mutans* y la evolución del índice ICDAS fue similar para ambos grupos. Respecto a *S. mutans*, la reducción más significativa tuvo lugar a los 3 meses con respecto al inicio, y esta reducción fue algo mayor en el grupo de US, aunque no fue significativa. Los niveles de *S. mutans* en saliva aumentaron nuevamente a los 6 meses para alcanzar el estado inicial a los 9 meses de tratamiento. Los dos grupos de estudio no mostraron ninguna diferencia significativa (intra o intergrupal) respecto al índice ICDAS en ninguno de los cuatro puntos temporales registrados: inicio, 3, 6 y 9 meses. El índice aumentó ligeramente a los 6 meses en ambos grupos evaluados. Por lo tanto observamos que el tratamiento adicional de TFD o US en dosis repetidas retrasó los efectos secundarios no deseados durante el tratamiento de ortodoncia fijo en pacientes jóvenes con bajo riesgo de caries y signos de inflamación gingival.

Cada vez son más los estudios *in vitro* que constatan la capacidad de la TFD en la erradicación de biopelículas cariogénicas. En el estudio llevado a cabo por Esteban Florez y cols., se utilizó un ensayo de bioluminiscencia (BL) no destructivo y en tiempo real para determinar la utilidad de los tratamientos de TFD mediados por AM e irradiación con láser contra biopelículas intactas capaces de producir caries. Este estudio

demostró que la TFD tiene un potencial prometedor como método adicional para controlar las biopelículas cariogénicas orales. [338] Por otra parte, Méndez y cols. demostraron que la combinación de TFD mediada por AM redujo la viabilidad de todos los microorganismos presentes en la caries dental así como la vitalidad de las biopelículas. [254] Otros agentes fotosensibilizantes como CUR se han mostrado tan eficaces como la clorhexidina al 0,12% durante 1 min, para la descontaminación oral. [339]

Ya en un contexto clínico, Panhóca y cols. [292] investigaron los efectos de la TFD mediada por CUR para la descontaminación oral en pacientes de ortodoncia y observaron que la TFD era capaz de reducir la carga de *S. mutans* en la saliva de dichos pacientes concluyendo por tanto que, la TFD puede usarse como un adyuvante y un agente útil para promover la descontaminación oral en la práctica clínica. Araújo y cols., llevaron a cabo un estudio en 10 pacientes con lesiones cariosas activas profundas para evaluar el efecto antimicrobiano de la AM/TFD en dichas lesiones. Los resultados mostraron una clara reducción del número de UFCs de *S. mutans*, concluyendo que la TFD es una técnica prometedora para eliminar bacterias en el tratamiento de la caries dental. [340] En un estudio llevado a cabo por Fekrazad y cols. para evaluar los efectos de la TBO/TFD en la reducción de los niveles de *S. mutans* en saliva en 22 niños con caries de la primera infancia, se observó cómo los recuentos de *S. mutans* disminuyeron significativamente después de 1 h. Sin embargo, la diferencia en la reducción de S. mutans en saliva no fue significativa entre el inicio y 7 días después del tratamiento. Ellos concluyeron por tanto que TBO/TFD parece ser eficaz para reducir el *S. mutans* salival inmediatamente después la su aplicación. [341]

Nuestro estudio presentó datos comparativos útiles de marcadores clínicos, microbiológicos y pro-inflamatorios, registrando los efectos de una terapia novedosa (TFD) y otra bien descritas en el contexto del mantenimiento de la salud periodontal y mantenimiento de la remineralización del esmalte (US), en un conjunto de pacientes de ortodoncia estrictamente controlados. Aunque ambos tratamientos dieron como resultado una mejoría clínica, microbiológica e inmunológica, no se pudo demostrar la clara superioridad de un procedimiento sobre el otro. En el contexto de la atención de mantenimiento, ambos procedimientos son bien tolerados sin efectos secundarios, incluso cuando se repiten varias veces.

La TFD mostró un potencial terapéutico similar al del US y una alta seguridad. Es importante puntualizar que todavía no existe un consenso sobre las pautas de tratamiento óptimas cuando se utiliza TFD en cuanto a dosimetría (concentración de FS, fuente de luz, fluencia de la radiación empleada, sesiones e intervalo entre las mismas…). Es probable que sean necesarias modificaciones en el protocolo para obtener resultados más eficaces, lo que indica la necesidad de realizar estudios adicionales. Con el fin de obtener resultados más significativos, sería interesante también incrementar el tamaño muestral y realizar los estudios a más largo plazo.

C1.4. CONCLUSIONES

1. La TFD es un tratamiento tan seguro y efectivo como el tratamiento convencional de US para la prevención y control de la inflamación gingival inducida por aparatos de ortodoncia fijos.

2. La TFD muestra una capacidad similar a la técnica de US para reducir el recuento de periodontopatógenos dentro de la placa, disminuyendo así los mediadores pro-inflamatorios y los parámetros clínicos periodontales.

3. En el control de la inflamación gingival, los beneficios de la TFD se mantienen durante un periodo de tiempo algo más largo que el US.

4. La TFD muestra una efectividad similar al US en la reducción de los niveles salivares de *S. mutans* y por tanto la misma capacidad para la prevención y control de la desmineralización del esmalte tras un prolongado tratamiento ortodóncico fijo.

CAPÍTULO 2A

FBM en ortodoncia: efectos en el estado periodontal de pacientes tratados con ortodoncia lingual.

C2A.1. JUSTIFICACIÓN

La Ortodoncia lingual genera mayor retención de placa y cursa con mayor inflamación gingival respecto al tratamiento bucal (la superficie lingual es más pequeña que la bucal por lo que los brackets ocupan la mayoría del espacio, situándose por ello más próximos a la encía y dificultando la eliminación de placa). Apenas hay estudios sobre las consecuencias periodontales que puede generar un tratamiento de ortodoncia lingual en adultos y menos aún evaluando a corto y largo plazo la inflamación producida por dichos dispositivos. La mayoría de los estudios publicados sobre el uso de FBM aplicada como complemento al tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal avalan una respuesta clínica e inmunológica mejorada. Estos resultados permiten presuponer que la FBM aplicada en el transcurso del tratamiento ortodóncico puede ser una herramienta útil para controlar la inflamación gingival. Por todo ello, el presente estudio pretende evaluar un protocolo de FBM aplicado inicialmente en dosis repetidas en la atenuación de la inflamación y mejora de la condición periodontal a corto y largo plazo en pacientes tratados con ortodoncia lingual.

C2A.2. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

La metodología llevada a cabo en este trabajo, así como los resultados obtenidos se describen de forma detallada en la publicación que se adjunta en el ANEXO II.

Materiales y métodos

Doce pacientes con edades comprendidas entre 28 y 46 años, del Máster de Ortodoncia de la UCM, programados para recibir un tratamiento de ortodoncia lingual, y sin ningún tipo de patología periodontal previa, fueron seleccionados. Antes de colocar la ortodoncia lingual y a los 1, 2, 3 y 12 meses después del inicio del tratamiento ortodóncico, se registraron los parámetros clínicos (índice de placa visible (IPV), sangrado al sondaje (SS) y profundidad de sondaje (PS)) a la vez que se tomaron muestras de fluido del surco gingival (FCG) para determinar interleucina-1 beta (IL-1β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). El presente ensayo clínico se diseñó como un estudio a boca partida donde para cada paciente, el cuadrante 1 ó 2 fue elegido al azar para ser irradiado con un láser de diodo (λ=670 nm, 190 mW, 60 s/diente) (grupo Láser). En el cuadrante contralateral, la punta difusora se insertó parcialmente en el surco gingival, pero sin emisión de radiación láser (grupo Control).

Resultados

Se observó un ligero empeoramiento de la condición periodontal en los dos grupos, sobre todo entre el segundo y tercer mes del inicio del tratamiento ortodóncico y más evidente en el lado lingual del grupo Control. El índice de placa visible (IPV) y el sangrado al sondaje (SS) aumentaron en ambos grupos, sobre todo en el grupo Control, sin diferencias *intra* e *intergrupo*. En el grupo Láser, los valores de Profundidad de sondaje (PS) mostraron diferencias estadísticamente significativas *intragrupo* entre el inicio y tercer mes en el lado lingual y en el grupo de Control, entre el inicio y el primer, segundo y tercer mes en el lado lingual ($p<0,05$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas *intergrupos*. Los niveles de IL-1β en el FCG se incrementaron significativamente en el grupo Control en comparación con el grupo Láser al segundo y tercer mes de la colocación del dispositivo de ortodoncia lingual. A los 12 meses, se observó una mejora de la inflamación en ambos grupo. Los niveles de TNF-α se mantuvieron constantes durante todo el estudio. La aplicación complementaria de FBM frenó el incremento de IL-1β en el FCG y de la PS.

ANEXO II

Photomedicine and Laser Surgery
Volume 34, Number 7, 2016
© Mary Ann Liebert, Inc.
Pp. 284–290
DOI: 10.1089/pho.2015.4024

Short- and Medium-Term Effects of Low-Level Laser Therapy on Periodontal Status in Lingual Orthodontic Patients

Rosa Abellán, AM,[1] Clara Gómez, PhD,[2] María Dolores Oteo, PhD,[1] Giuseppe Scuzzo, PhD,[1] and Juan Carlos Palma, PhD[1]

Abstract

Objective: The purpose of this study was to evaluate the short- and medium-term effects of low-level laser therapy (LLLT) applied in repeated doses in adults with a healthy periodontium treated by lingual orthodontic appliances. ***Background data:*** Plaque accumulation, in combination with difficulty in removing it in lingual orthodontic patients, can cause gingival inflammation. ***Methods:*** Twelve orthodontic patients scheduled for fixed lingual orthodontic treatment were selected. Clinical measurements [visible plaque index (VPI), bleeding on probing (BOP), and probing depth (PD), and collection of gingival crevicular fluid (GCF)], which was used to measure the levels of interleukin-1beta (IL-1β) and tumor necrosis factor alpha (TNF-α), was performed before bonding the lingual device, and at the short-term (1, 2, 3 months) and medium-term (12 months) follow-up appointments. For each patient, quadrant 1 or 2 was randomly chosen for irradiation by a diode laser ($\lambda = 670$ nm, 190 mW, 6.05 W/cm^2, 60 sec/ tooth) (Laser Group) and the contralateral quadrant was used as the Control Group. ***Results:*** In both studied groups, a slight worsening of the periodontal condition was observed, which was evident at the 3rd month follow-up and which was mainly at the lingual side in the Control Group. The levels of IL-1β in the GCF were significantly increased in the Control Group compared with the Laser Group at the 2nd and 3rd months after bonding. At the 12th month follow-up, an improvement of the inflammation was observed in both groups in the study. ***Conclusions:*** LLLT showed short-term effects by preventing a substantial increase in IL-1β levels. At medium-term follow-up, LLLT diminished VPI, BOP, and PD scores.

Introduction

LINGUAL ORTHODONTIC APPLIANCES HAVE aesthetic advantages over conventional labial orthodontic appliances for correcting certain types of malocclusions, including invisibility and better biomechanics.[1] Nevertheless, strong concerns have arisen about tongue soreness, speech difficulty, restriction of mastication, and oral discomfort with lingual orthodontic appliances.[2]

With the recent advances and development of a wide range of laser wavelengths, researchers suggest that lasers could be applied for dental treatment, including periodontal, restorative, surgical, and orthodontic treatments.[3–5] Low-level laser therapy (LLLT) is a light-source treatment that generates light with a single wavelength, and it acts through a nonthermal, photochemical reaction in the cells. It has been postulated that the photobiological action mechanism of LLLT is generated via activating of the respiratory chain. Primary photoacceptors are terminal oxidases (cytochrome c oxidase on eukaryotic cells) as well as NADH-dehydrogenases (for the blue-to-red spectral range), with a crucial role in cellular bioenergy.[6,7] The review of de Paula et al.[8] supports the hypothesis that LLLT can modulate the periodontal inflammatory process mainly by reduction of the prostaglandin E2 (PGE2) release. It seems that different pathways in inflammatory modulation take place. LLLT influences the expression of cyclooxygenase (COX)-2 and interleukin-1beta (IL-1β), as well as matrix metalloproteinase (MMP)-8, platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor (TGF)-β, basic fibroblast growth factor (bFGF), and plasminogen.[9–11] Beneficial effects of LLLT were only observed when LLLT acted as a coadjuvant

[1]Departamento de Estomatología IV, Facultad de Odontología, UCM, Madrid, Spain.
[2]Departamento de Sistemas de Baja Dimensionalidad, Superficies y Materia Condensada, Instituto de Química Física Rocasolano, CSIC, Madrid, Spain.

C2A.3. DISCUSIÓN

Tanto en trabajos previamente publicados, como en el presente estudio, se ha visto que al cementar brackets en la cavidad oral, se originan alteraciones periodontales, que en su mayoría, tienen lugar en los tres primeros meses tras el comienzo del tratamiento, bien porque el paciente al inicio del tratamiento no tiene bien establecidos los hábitos de higiene específicos para llevar un aparato de ortodoncia, ó bien por la respuesta de los tejidos que rodean al dispositivo ortodóncico, que se expresa con alteraciones periodontales. [342,343]

El presente estudio se realizó más allá de este período específico de tres meses para detectar el momento en que tuvo lugar la alteración de los parámetros periodontales y ver qué ocurre a medio-largo plazo. Como todos los pacientes mostraron un periodonto sano y no se observaron recesiones gingivales ni antes ni durante el tratamiento ortodóncico, se valoró la inflamación gingival a través de los valores de PS en vez de cuantificar el nivel de reinserción clínico (NIC).

El diseño a boca partida ha sido la principal herramienta de investigación en ensayos clínicos periodontales para comparar las diferentes modalidades de tratamiento, para garantizar la estandarización del estudio y eliminar posibles factores ambientales y locales entre individuos y factores dependientes del huésped. Pero este diseño presenta el problema de no conseguir una verdadera separación entre los efectos del grupo experimental y control. En el presente estudio, la radiación láser de bajo nivel energético fue aplicada directamente en el surco periodontal por una punta difusora de luz configurada como una sonda periodontal generando un spot de menos de 2 mm de diámetro. De esta manera, la radiación láser aquí empleada se aplica por tanto altamente focalizada, de modo que los efectos son exclusivamente locales sin afectar a los tejidos circundantes.

Al inicio del estudio, los valores de los parámetros clínicos periodontales fueron muy bajos para todos los índices estudiados (indicando un periodonto sano) y no hubo diferencias significativas entre los valores registrados en los dos grupos estudiados. El efecto inflamatorio inicial del tratamiento de ortodoncia lingual fue en parte contrarrestado tanto por la acción de la FBM como por la práctica de las instrucciones específicas de rutina de higiene oral para pacientes sometidos a tratamiento de ortodoncia con brackets. Se observó un ligero empeoramiento de la condición

periodontal en los dos grupos, sobre todo entre el 2º y 3er mes del inicio del tratamiento ortodóncico y más pronunciado en el lado lingual del grupo Control. IPV fue aumentando a lo largo del estudio (de manera muy moderada), observándose al 3er mes un incremento de 4,67% y 6,22% respecto al valor inicial en el lado lingual en los grupos FBM y Control, respectivamente. A largo plazo (12 meses), IPV aumentó más en la cara lingual que en la vestibular en ambos grupos, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre el inicio del estudio y el seguimiento final de los 12 meses, en los valores de IPV linguales en el grupo Control. Los valores de SS aumentaron también a lo largo del estudio (también de manera muy moderada), principalmente en el grupo Control, observándose al 3er mes un incremento de 5,92% y 6,54% respecto al valor inicial en el lado vestibular y lingual, respectivamente, en dicho grupo Control. A largo plazo (12 meses), los valores de SS siguieron aumentando, principalmente en el grupo Control, siendo los valores diferentes desde un punto de vista estadístico entre los dos grupos, en la cara lingual en este último seguimiento. Los valores de PS fueron aumentando ligeramente, principalmente en la cara lingual en ambos grupos hasta el 3er mes, a partir de este momento comenzaron a descender. Aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, en la cara lingual en el tercer y último mes de seguimiento (12 meses).
Ren y cols., investigaron los efectos analgésicos y moduladores de la inflamación de la radiación láser de bajo nivel energético en pacientes de ortodoncia y observaron que el estado periodontal se mantuvo prácticamente estable durante el tratamiento. El grupo control tuvo un mayor IP que el grupo láser, sobretodo en los 3 primeros meses, con diferencias significativas. Respecto al SS, los parámetros fueron mayores en el grupo control con diferencias significativas en el primer mes de tratamiento. Los demás parámetros no mostraron diferencias significativas ni a corto ni a medio plazo. [344]

Hay muy pocos estudios publicados sobre la influencia del tratamiento de ortodoncia lingual en el estado periodontal en adultos. Demling y cols. [342] comprobaron que la colocación de aparatos linguales fijos, sin profilaxis dental de apoyo, indujo un empeoramiento de los índices periodontales medidos en lingual. Entre los trabajos que relacionan ortodoncia, higiene oral y salud periodontal, que en su mayoría son con ortodoncia vestibular, Quaranta y cols., [345] han mostrado como una mala higiene bucal durante el tratamiento de ortodoncia (fija bucal) puede conducir al desarrollo de gingivitis, aumento de la profundidad de sondaje, hiperplasia de los tejidos,

descalcificación, caries y lesiones de mancha blanca en la superficie de los dientes. Seleccionaron 22 pacientes de entre 12-18 años, tratados con ortodoncia fija, sin antecedentes de alteración periodontal o gingivitis. Se dieron instrucciones de higiene oral y se enseñó a utilizar una técnica de higiene diseñada específicamente para pacientes de ortodoncia basada en la utilización de un cepillo interproximal como complemento al cepillado. La reducción en la aparición de problemas periodontales, caries, manchas blancas etc en el grupo experimental fue significativamente mayor en comparación con los controles. Por lo tanto concluyeron que la combinación del cepillo de dientes manual y el cepillo interproximal demostró un mejor control de la placa y niveles de inflamación gingival en pacientes de ortodoncia en comparación con el cepillado manual solo. [345]

La formación de placa tras el inicio del tratamiento de ortodoncia fija bucal o lingual se incrementa y viene generalmente asociada con un aumento de PS y SS. Este efecto se limita a los lugares donde se coloca el aparato de ortodoncia (lingual, en el estudio reportado por Demling y cols. [342] y bucal, en los estudios de Glans y cols. [346]) Estos resultados coinciden con los de nuestro estudio, donde se vio que el SS aumentó a corto y medio plazo en ambos grupos, pero especialmente en la cara lingual del grupo control.

Gray y Mclntyre [347] revisaron la efectividad de la promoción de la salud oral (PSO) en pacientes con ortodoncia sobre la salud gingival. Llegaron a la conclusión de que la PSO para los pacientes sometidos a tratamiento con aparatos fijos de ortodoncia produce una reducción a corto plazo (hasta 5 meses) en la placa y una mejora en la salud gingival. Los resultados de nuestro trabajo muestran que la terapia láser de bajo nivel energético puede minimizar el efecto perjudicial del tratamiento de ortodoncia lingual en pacientes con buena salud oral.

Hay estudios como el de Sanz y cols., donde comprueban que las aplicaciones de la radiación láser podrían apoyar o ser una alternativa al tratamiento periodontal. [348] Se ha visto que la radiación láser debe aplicarse en dosis repetidas para que tenga efecto en la cavidad oral. [349] La FBM tiene efectos positivos en la cicatrización de heridas, aumenta y acelera el proceso de curación en el tejido dañado o enfermo con bioestimulación, normaliza la permeabilidad de los vasos sanguíneos y aumenta la microcirculación al causar vasodilatación, y por ello se puede presuponer su acción beneficiosa en el tejido periodontal si es ahí donde se aplica. [350] En el presente estudio, se aplicó FBM justo

después de la colocación de los brackets, mediante el empleo de un láser de diodo con una longitud de onda de 670 nm, 190 mW, durante no más de 60 s/diente. El tratamiento se repitió seis veces en 2 semanas y en los periodos de revisión al 1º, 2º y 3º meses, después de esto los pacientes fueron reevaluados a los 12 meses. Por otra parte, el efecto de la FBM en la gingivitis inducida por aparatología fija multibrackets, tras la retirada de brackets se ha estudiado en el maxilar superior a boca partida, siguiendo un protocolo de irradiación con similitudes al aquí discutido. La radiación láser empleada procedió de un láser de diodo (100 mW/cm^2, λ=660 nm, 20 s, fluencia 2 J/cm^2, dosis total 52 J/cm^2) y fue aplicada del incisivo central al primer molar del cuadrante láser, perpendicular a la parte superior de la encía adherida, tanto por vestibular como por palatino, en la zona central y en la papila mesial y distal. El estudio concluye que la FBM puede acelerar el proceso de curación de la gingivitis inducida por aparatología fija multibrackets. [351]

Varios estudios han investigado los efectos de la FBM aplicada complementariamente al tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal. En este contexto, Qadri y cols. investigaron los efectos de la FBM a corto plazo (8 semanas), en su estudio a boca partida. Aplicaron un láser a una longitud de onda de 635 nm en la papila vestibular y a una longitud de onda de 830 nm en la sección vestibular y lingual, una vez por semana durante 6 semanas. Se observó una disminución significativa en el área de aplicación de la FBM en términos de valores de PS, e IG. [352] Así mismo, Aykol y cols. [353] en su estudio con 36 pacientes, utilizaron también FBM en dosis repetidas, con un láser de diodo con una longitud de onda de 808 nm, aplicado en la superficie gingival y encontraron que había una diferencia estadísticamente significativa en los valores periodontales entre el grupo láser y el grupo control. A lo largo de todo el estudio, el grupo de FBM mostró una mejora significativamente mayor en el SS, PS e inflamación, en comparación con el grupo control. Por tanto concluyeron que la FBM como terapia complementaria al tratamiento periodontal no quirúrgico es capaz de mejorar la situación periodontal. En nuestro estudio, al aplicar la FBM sobre pacientes periodontalmente sanos y con un control exhaustivo de la higiene oral, los resultados no son tan relevantes como cabía esperar, pero siguen apoyando la teoría de que mejoran ciertos parámetros relacionados con el estado periodontal.

Aunque hay estudios que muestran que la aplicación de FBM en tratamiento periodontal no quirúrgico proporciona buenos resultados y perfilan a la radiación láser como una

herramienta prometedora en el ámbito periodontal, también los hay que no encontraron resultados satisfactorios del láser frente al tratamiento periodontal no quirúrgico, solo en términos de parámetros microbianos y gingivales [354,355] Dukić y cols. [356] no encontraron una diferencia significativa entre los dos grupos estudiados respecto a bolsas periodontales de entre 7 y 10 mm, pero si encontraron una diferencia significativa positiva en las bolsas de entre 4 y 6 mm. Makhlouf y col. [357] no encontraron una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo láser y el grupo control para los valores IG y IPV. Sin embargo la PS mostró una diferencia estadísticamente significativa a corto plazo (semana 5 y mes 3), mientras que esta diferencia no se observó a largo plazo (mes 6).

El estudio de Angiero y cols., muestra que la FBM puede ayudar a reducir los niveles inflamación en la enfermedad periodontal, con una mejora significativa de los niveles de bradiquinina, VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular; *Vascular Endothelial Growth Factor*), EGF (factor de crecimiento epidérmico; *Epidermal Growth Factor*) y de los parámetros periodontales clínicos, promoviendo la curación de los tejidos periodontales a corto plazo. La importancia de resolver la fase inflamatoria ha sido ampliamente estudiada, y sugiere que la rápida reducción de los mediadores de la inflamación puede estar relacionada con un mejor proceso de curación. [358] La bradiquinina está involucrada en procesos inflamatorios y afecta a la dilatación de los vasos sanguíneos y la permeabilidad vascular, así como al inicio del dolor. Los niveles de bradiquinina juegan un papel importante en diversas enfermedades inflamatorias, y también se cree que desempeña un papel importante en el desarrollo de la inflamación gingival y la resorción ósea. [359] Los VEGF son una superfamilia de factores de crecimiento y VEGF-A es el más representado en el proceso de curación. [360] Se ha visto que la FBM puede conseguir una reducción significativa de ellos, como sugieren Angiero y cols., en su estudio, demostrando que la aplicación de FBM como complemento al tratamiento periodontal no quirúrgico, puede ayudar a reducir la inflamación, mejorar significativamente los niveles de bradiquinina, VEGF y EGF y los parámetros clínicos, promoviendo la curación de los tejidos periodontales. [358] Calderín y cols., [164] evaluaron los beneficios clínicos, antiinflamatorios y osteoinmunológicos de la FBM como tratamiento complementario del raspado y alisado radicular (RAR) en la periodontitis crónica. En el estudio participaron veintisiete pacientes que fueron tratados de manera aleatoria con RAR, RAR+ (1 sesión de FBM: 1er día) y RAR+ (5 sesiones

FBM: días 1, 2, 4, 7 y 11). Los resultados mostraron que los pacientes a los que se aplicó RAR+FBM en dosis repetidas, mostraron una tendencia a reducir los mediadores proinflamatorios y la relación RANKL / OPG, en mayor magnitud y rapidez. Por ello, un punto importante a tener en cuenta para la obtención de un mayor efecto, es la administración de la FBM a lo largo de varias sesiones consecutivas.

En la actualidad sigue siendo muy difícil comparar los resultados obtenidos por ejemplo en el presente estudio y los obtenidos en estudios ya publicados por la discrepancia que existe entre los diferentes protocolos empleados para aplicar la FBM y las diferentes condiciones clínicas iniciales. Los láseres de bajo nivel energético interaccionan con las células y los tejidos a través de reacciones fotoquímicas. Esta interacción puede verse afectada por algunos parámetros, como la longitud de onda, la potencia, la densidad de energía, la duración del tratamiento, el tiempo de intervención del tratamiento, el sistema de aplicación de la radiación, la estructura y el estado del tejido. La dosis aplicada durante la aplicación de la radiación láser es uno de los parámetros de tratamiento importantes que determinan el beneficio de FBM. Sin embargo, todavía no está claro cuáles son los parámetros óptimos para FBM, debido a la escasez de estudios adecuados y a la variabilidad de los protocolos; aún no se ha determinado una dosis específica recomendada. La pauta de aplicación seguida en este estudio se estableció en base a la aplicación de un protocolo racional dentro de los protocolos que ya habían sido descritos en estudios previos.

Aunque todavía se necesitan más estudios clínicos controlados realizados a mayor escala, con periodos más largos de evaluación y con protocolos bien definidos para aclarar los efectos y establecer un protocolo de actuación optimizado para el uso de FBM, gran parte de la literatura defiende unos resultados clínicos significativamente mejores cuando se utiliza FBM como complemento al tratamiento no quirúrgico de la enfermedad periodontal. [330,361] Todo ello permite presuponer que la FBM aplicada en el transcurso del movimiento ortodóncico puede ser una herramienta útil para controlar la inflamación periodontal.

El análisis de indicadores bioquímicos específicos presentes en el FCG es una buena opción para evaluar el metabolismo celular local, reflejando el estado de salud y el proceso de la remodelación ósea periodontal durante el tratamiento de ortodoncia. [362] También se ha demostrado que la propia placa dental tiene un marcado efecto sobre el

volumen registrado de FCG en el Periopaper. [363] Por lo tanto, en nuestro estudio, se tomaron muestras de FCG después de eliminar toda la placa supragingival.

Las fuerzas de ortodoncia representan un agente físico capaz de inducir una reacción inflamatoria en el periodonto. Esta reacción es necesaria para el movimiento ortodóncico de los dientes, pero una reacción inflamatoria excesiva puede retrasar este movimiento. La IL-1β es una citocina proinflamatoria que desempeña un papel importante en la respuesta inmunoinflamatoria y provoca un aumento de la degradación ósea. [364] Una fuerza de ortodoncia suave tiende a mantener los niveles relativamente altos de IL-1β durante un período más largo y, por lo tanto, puede reducir la frecuencia de reactivación. Estos niveles elevados de citocinas y más duraderos inducidos por una fuerza ortodóncica suave y continuada, son necesarios para que se produzca al mismo tiempo un continuo remodelado periodontal. [365]

Los estudios en el campo de la periodoncia confirman que la IL-1β es eficaz para cuantificar la inflamación periodontal y se puede utilizar como una herramienta de laboratorio para evaluar la actividad de la enfermedad periodontal. [366] En este contexto, los beneficios periodontales de la terapia láser de bajo nivel energético se han descrito previamente en términos de una mayor reducción de la PS, los sitios de sangrado, la inflamación periodontal, así como una disminución de los niveles de IL-1β en el FCG, incluso en el primer mes de aplicación. [336]

Debido a que el movimiento dental debe realizarse de manera segura y eficiente, es importante determinar los posibles efectos adversos de diversas magnitudes de la aplicación de la fuerza, la biología celular a través de las citocinas y la incomodidad del paciente por la intensidad del dolor. Singh y cols. en su estudio con sujetos con un buen estado gingival y periodontal, compararon dos magnitudes diferentes de la fuerza de ortodoncia para realizar el movimiento de retracción canina, con respecto a la secreción de IL-1β en FCG, la eficiencia del movimiento de los dientes y la percepción del dolor. Concluyeron que una fuerza continua de 150 g dio como resultado niveles significativamente más altos de IL-1β a las 24 h y después de 2 meses de haber comenzado el movimiento dental en ambos grupos, mayor en el de más aplicación de fuerza. Una fuerza continua de 50 g produjo una intensidad de dolor significativamente menor a las 24 h en comparación con una fuerza de 150 g. Ambas fuerzas resultaron eficaces en el movimiento de los dientes tras 2 meses de tratamiento, pero sin una

diferencia estadísticamente significativa. Por lo tanto demostraron que una fuerza continua y ligera podría inducir efectivamente un movimiento similar a una fuerza superior, pero con menos dolor e inflamación. [367]

En el presente trabajo, los niveles de IL-1β en el FCG se incrementaron inmediatamente después de la colocación de la ortodoncia lingual en ambos grupos. En el grupo FBM, se observaron altos niveles de IL-1β en el primer mes que se mantuvieron constantes durante el segundo y tercero, frente al grupo control donde los niveles de IL-1β aumentaron progresivamente a lo largo de los tres primeros meses de tratamiento. A los 12 meses de seguimiento, los niveles de IL-1β en FCG disminuyeron y volvieron a los valores iniciales en el grupo FBM. En el grupo control, disminuyeron pero sin llegar a alcanzar los valores iniciales. Por lo tanto, los resultados muestran que la FBM podría ser un complemento eficaz, útil para reducir este mediador proinflamatorio.

Los valores de TNF-α se mantuvieron constantes durante todo el estudio y no se observaron diferencias significativas intragrupo o intergrupo. Karacay y cols. estudiaron los niveles de TNF-α en FCG después de la colocación de un retractor híbrido para una distalización moderada de los caninos superiores, aplicando una fuerza continua. Estos niveles se incrementaron a las 24 h y se redujeron en la primera semana después del comienzo del tratamiento ortodóncico. La razón para esta disminución podría ser la adaptación de los tejidos a la «suave» fuerza continua ya a partir de la primera semana del tratamiento. [368] La aplicación de fuerzas elevadas produce hialinización del tejido con una rápida e incrementada producción de TNF-α. [369] En el presente trabajo, una posible adaptación del tejido a la suave fuerza continua ejercida, podría enmascarar el efecto de la terapia láser de bajo nivel energético en la modulación de TNF-α en los periodos establecidos para la evaluación.

Por último, aunque no era un objetivo del estudio, algunos pacientes informaron de una reducción del dolor en el cuadrante tratado con terapia láser de bajo nivel energético. Este efecto de la terapia láser de bajo nivel energético ha sido comentado durante el tratamiento de ortodoncia en diversas ocasiones. [370] Se ha demostrado en el estudio de Nicotra y cols., [161] que los sujetos tratados con FBM muestran un alivio progresivo y constante del dolor, frente a los sujetos del grupo control, obteniendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Por tanto la FBM puede ser útil en aquellos pacientes que por algún motivo no pueden tomar analgésicos como medio de

reducir el dolor, sobre todo en las fases iniciales de tratamiento, algo a lo que suelen recurrir un porcentaje medio de ellos, [371] e incluso durante las diferentes etapas del tratamiento de ortodoncia, incluida la de cierre del espacio [372]

Según los resultados obtenidos, a corto plazo, un tratamiento adicional con FBM ralentiza la leve alteración periodontal causada intrínsecamente por el tratamiento de ortodoncia lingual y tiene un efecto beneficioso en el control de la inflamación periodontal corroborado por los valores de SS, PS y los niveles de IL-1β en el FCG. En la re-evaluación de los 12 meses, la FBM disminuye los valores de IPV, PS y SS, permitiendo una recuperación más rápida del estado periodontal inicial.

Por otra parte, una alternativa a la ortodoncia lingual son los alineadores transparentes, que debido a su estética y comodidad, se ha convertido en una opción muy demandada. Se ha demostrado en varios estudios, como el de Buschang y cols., que el porcentaje de inflamación gingival causado por el tratamiento de ortodoncia utilizando esta técnica, es prácticamente inexistente o muy reducido. [51] Además los alineadores se retiran para comer, con lo cual no hay un acúmulo extra de restos alimenticios alrededor del aparato, y además permiten realizar una correcta higiene oral ya que los dientes se lavan sin el alineador en boca y el alineador se lava también de manera individual. Por lo tanto prácticamente las condiciones intraorales son las mismas que sin ortodoncia. [373] Miethke y cols., compararon la salud periodontal de 30 pacientes durante el tratamiento con el sistema Invisalign o aparatología fija lingual. Midieron el IG, IP, y el índice de sangrado papilar (ISP), así como la PS. Observaron que en general, los pacientes con Invisalign presentaron valores significativamente mejores en todos estos índices salvo en PS, que fue muy similar en ambos grupos. Por lo tanto, concluyeron que con Invisalign, el riesgo periodontal es menor que el asociado a la aparatología lingual. Sin embargo, aun así, añaden que los brackets linguales son cada vez más pequeños, lo que favorece la higiene, estando indicado su uso en aquellos pacientes que por su maloclusión esta técnica sea favorable, sin suponer un riesgo elevado para el estado periodontal. [374]

En cualquier caso, los pacientes a día de hoy buscan tratamientos rápidos, ya que vivimos en una sociedad donde lo que prima es la inmediatez, incluido en el campo de la ortodoncia. Es por eso que se buscan alterativas para ofrecer una solución segura y efectiva para reducir el tiempo de tratamiento mientras se mantienen resultados de alta

calidad. Los métodos desarrollados para acelerar el tratamiento incluyen entre otros corticotomías, [375] y también FBM. [376]

La FBM es de particular interés porque no es invasiva al contrario que las corticotomías y su mecanismo de acción es bien conocido. Además, se ha demostrado que acelera el movimiento de ortodoncia, incluyendo aquí tanto los tratamientos aparatología fija [377] y también con Invisalign. Los estudios de casos publicados sobre el tratamiento de Invisalign junto con FBM han demostrado que los pacientes pueden cambiar de alineador más rápidamente que con el protocolo estándar de Invisalign, lo que reduce el tiempo de tratamiento. Al igual que con ortodoncia fija, los alineadores mueven los dientes mediante la aplicación de fuerzas de compresión y tensión al periodonto. [378] Ojima K y cols., [379] en dos de sus estudios, demuestran que la FBM aumenta la velocidad de movimiento dentario en los tratamientos con Invisalign, permitiendo que los pacientes en lugar de seguir el protocolo habitual de cambio de alineadores cada dos semanas, puedan realizar el cambio cada 3 días, sin que haya desajustes, ni dolor, ni pérdida de eficacia, gracias a la aplicación FBM. En este estudio se empleó para ejercer la FBM, la radiación de un láser de diodo de baja potencia emitiendo a una longitud de onda de 850 nm, aplicada todos los días durante 10 min, 5 min por arcada. Parece por ello que el futuro de una ortodoncia donde prime la estética dental y la inmediatez en adultos podría sustentarse en la combinación de alineadores transparentes y en el uso complementario de FBM.

C2A.4. CONCLUSIONES

1. La FBM no generó efectos llamativos, pero sí pequeños efectos significativos en los parámetros clínicos de IPV, SS y PS y en los niveles del mediador pro-inflamatorio IL-1β en el FCG, en algunos momentos del seguimiento del estudio.

2. A corto plazo, la FBM ralentizó el ligero deterioro periodontal causado intrínsecamente por el tratamiento de ortodoncia lingual, disminuyendo significativamente los valores de los parámetro clínicos de SS y PS y los niveles de IL-1β en el FCG.

3. A medio plazo, la FBM mejoró significativamente los valores de los parámetros clínicos de IPV, SS y PS, permitiendo una recuperación más rápida del estado periodontal inicial.

CAPÍTULO 2B

FBM en ortodoncia: efectos en el movimiento de intrusión molar con minitornillos.

C2B.1. JUSTIFICACIÓN

La sobreerupción de un molar de la arcada superior es un problema común en pacientes adultos, generalmente causada por una temprana pérdida del diente antagonista. La intrusión ortodóncica es quizás el enfoque más conservador y adecuado para corregir este problema. Recientemente, los sistemas de anclaje ortodóncico osteointegrados han sido reconocidos como anclajes estacionarios para el movimiento dentario. De todos los dispositivos de anclaje esqueléticos, los implantes "minitornillo" son actualmente los más pequeños y ventajosos: mínima limitación anatómica, fácil colocación y fácil eliminación, capacidad de recibir carga inmediata, menores costes médicos y no hay necesidad de colaboración por parte del paciente. Ya la mecánica intrusiva de los molares sobreerupcionados mediante anclaje esquelético con "minitornillos" está todavía poco investigada y menos aún cuando esta mecánica se complementa con FBM en dosis repetidas durante todo el movimiento de intrusión, puede resultar interesante cuantificar los efectos de este movimiento de intrusión considerando varios aspectos (movimiento, velocidad, reabsorción radicular y salud periodontal) y comparar estos efectos con los obtenidos cuando esta mecánica se complementa con FBM.

C2B.2. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

La metodología llevada a cabo en este trabajo, así como los resultados obtenidos se describen de forma detallada en la publicación que se adjunta en el ANEXO III.

Materiales y métodos

Se seleccionaron 20 pacientes con un primer molar superior extruido e indicación de rehabilitación oral. Todos recibieron al comienzo del estudio una profilaxis supragingival e instrucciones de higiene oral. Para proporcionar el anclaje esquelético, se colocaron dos minitornillos autoperforantes en la región bucal y palatina del hueso alveolar del molar sobreerupcionado. Una semana después de colocar los minitornillos, se comenzó a aplicar la fuerza para la intrusión, mediante cadenetas elásticas, con una fuerza de entre 100-150 g.

Los 10 pacientes seleccionados aleatoriamente para formar parte del Grupo Test, recibieron de forma adicional la radiación láser de baja potencia en el molar a intruir, que mediante una punta difusora de luz, se liberó directamente en el surco gingival alrededor de la encía en cada una de las superficie dentales (distal, mesial, vestibular y

palatina) del molar durante 3 min por cada superficie (total 12 min) en los días 0, 1, 2, 3, 4 y 7 de la aplicación de la fuerza ortodóncica, y en cada revisión mensual.

El índice de placa (IP), la profundidad de sondaje (PS) y el sangrado de sondaje (SS) se evaluaron a los 0, 1, 2, 3 y 6 meses. Para valorar la cantidad de movimiento, la distancia de intrusión media, la velocidad de intrusión media y la reabsorción radicular volumétrica se realizaron medidas en modelos 3D (STL) generados a partir de un escáner intraoral a los 0, 3 y 6 meses así como superposiciones obtenidas de los CBCT realizados a los 0 y 6 meses.

Resultados

Los parámetros clínicos periodontales IP, PS y SS y la distancia de intrusión media o la velocidad de intrusión media no mostraron diferencias significativas (p>0,05) entre los grupos. Sin embargo, en el grupo de FBM, se observó una tendencia a un mayor descenso en los valores de los parámetros clínicos periodontales, principalmente SS y una inferior tasa de movimiento en los primeros 3 meses de tratamiento. El escáner intraoral y el CBCT fueron igual de efectivos para cuantificar de manera precisa la distancia de intrusión (p>0,05). Los registros CBCT permitieron la evaluación volumétrica del proceso de reabsorción radicular, siendo menor en el grupo FBM, pero no significativamente (p>0,05).

ANEXO III

PHOTOB-2020-4979-ver9-Abellan_1P.3d 06/23/21 10:30pm Page 1

PHOTOB-2020-4979-ver9-Abellan_1P
Type: research-article

Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery
Volume XX, Number XX, 2021
© Mary Ann Liebert, Inc.
Pp. 1–10
DOI: 10.1089/photob.2020.4979

Original Research

Effects of Photobiomodulation on the Upper First Molar Intrusion Movement Using Mini-Screws Anchorage: A Randomized Controlled Trial

AU2 ▶ AU1 ▶ Rosa Abellán,[1] Clara Gómez,[2] and Juan Carlos Palma[1]

Abstract

Objective: The aim of this study was to quantify the changes obtained when the molar intrusion movement is complemented by photobiomodulation (PBM).
Background: A common problem in adult patients is the super-eruption of maxillary molars caused by the loss of the antagonist tooth. Super-erupted molars impair oral rehabilitation and can cause both occlusal and functional problems. There is increasing research confirming the benefits of adjunctive PBM during orthodontic treatment.
Methods: Twenty patients with indication of a maxillary first molar intrusion for oral rehabilitation were selected. Patients were randomized into two groups to receive orthodontic intrusion (control group) or the same treatment complemented by PBM (PBM group) in repeated doses (days 0, 1, 2, 3, 4, and 7 from the start of the intrusion and in each monthly follow-up) by using a low-power red laser diode (670 nm, 150 mW, 12 min around the molar). Plaque index (PI), probing depth (PD), and bleeding of probing (BOP) were assessed at 0, 1, 2, 3, and 6 months. Stereolithography models generated from an intraoral scanner were taken at 0, 3, and 6 months and cone beam computed tomography (CBCT) records were taken at 0 and 6 months. Mean intrusion distance, mean intrusion velocity, and volumetric resorption were calculated.
Results: Periodontal clinical assessments (PI, PD, and BOP) and mean intrusion distance or mean intrusion velocity yielded no differences ($p > 0.05$) between groups. However, PBM group showed lower values of all these scores during the first 3 months. Intraoral scanner and CBCT were equally effective in accurately monitoring the intrusion distance ($p > 0.05$). CBCT records allowed volumetric evaluation of the root resorption process, being lesser in the PBM group, but not significantly ($p > 0.05$).
Conclusions: During orthodontic intrusion process, the adjunctive application of PBM may provide better periodontal records and lower progression of root resorption at the expense of a little lower intrusion distance and velocity.

Keywords: mini-screws, molar intrusion, skeletal anchorage, photobiomodulation, 3D analysis

Introduction

SUPER-ERUPTION OF THE MOLARS is a common problem in adult patients, generally caused by an early loss of the opposing teeth and their nonreplacement. Super-erupted teeth make prosthodontic treatment difficult, cause occlusal interferences, functional disorders, and compromise periodontal health.[1,2] Intrusion of a molar by an orthodontic movement is considered to be one of the most challenging movements, due to the complexity of its anatomy (three roots) and the lack of anchorage. This movement has a high risk of root resorption because the root apex and associated periodontium can experience high compression due to stress caused by the forces applied from the crown.[3–5]

Nowadays orthodontic intrusion through the use of ''mini-screw'' implants has gained wide acceptance. These temporary anchorage devices (TADs) are simple, easy to place and remove due to their small size, have minimal anatomical limitation, ability to receive immediate load, and their action is confined exclusively to the molar to be

AU4 ▶ AU3 ▶ [1]School of Dentistry, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.
[2]Institute of Physical Chemistry Rocasolano, Spanish National Research Council, CSIC, Madrid, Spain.

C2B.3. DISCUSIÓN

El presente estudio clínico fue específicamente diseñado para evaluar los efectos ortodóncicos y periodontales de la FBM aplicada complementariamente al tratamiento ortodóncico de intrusión molar asistido por minitornillos en pacientes con periodonto sano.

A la hora de diseñar un estudio de intrusión de primeros molares maxilares, uno de los factores más decisivos es establecer la magnitud de la fuerza que vamos a aplicar**.** Aunque la magnitud de fuerza adecuada para llevar a cabo la intrusión a día de hoy sigue sin establecerse claramente, las fuerzas descritas en la literatura van desde 50 hasta 200 g. [93,95,380] La principal dificultad para establecer una magnitud de fuerza apropiada surge del hecho de que en la mayoría de los estudios realizados se han utilizado diferentes metodologías de intrusión y por ello sus resultados solo pueden ser comparados de manera relativa. Aun así, y como se observa en gran parte de la literatura, las fuerzas más utilizadas para el movimiento de intrusión varían entre 100 y 200 g, siendo 150 g la fuerza elegida en la mayoría de ocasiones por el autores, ya que con esta fuerza moderada se consigue una intrusión adecuada, minimizando los posibles efectos secundarios de este movimiento sobre los dientes a intruir. De acuerdo con todo lo descrito, en nuestro estudio hemos utilizado una fuerza de entre 100 y 150 g.

Por otra parte, también resaltar que sigue siendo un tema controvertido ya que autores como Kato y Kato, sugirieron que una fuerza de 100 g era insuficiente para la intrusión posterior y en su estudio la aumentaron hasta 300 g; [381] y otros como Akl y cols.[5], recientemente han comparado los efectos de intrusión en dientes posteriores cuando se utilizan dos fuerzas diferentes de 200 y 400 g, no observándose diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de intrusión de ambos grupos.

En la elección de las características de los minitornillos empleados se tuvo en cuenta la de aquellos utilizados en estudios similares e insertados en la misma región anatómica. [93,382,383]

En general, las dimensiones más comunes en estos casos, cuando se insertan en vestibular y palatino, están comprendidas dentro del rango de los 6 y 15 mm de longitud, siendo el intervalo entre 6 y 10 mm los más utilizados. En cuanto al diámetro, el rango más común es entre 1,6 y 2,0 mm. En nuestro estudio en concreto, para

proporcionar el anclaje esquelético se emplearon dos minitornillos autoperforantes de 11 mm de longitud y 1,6 mm de diámetro.

En cuanto a la estabilidad de los minitornillos empleados, en el presente trabajo, únicamente tuvieron que ser reimplantados cuatro pacientes (es decir, una tasa de fallo del 10%). En uno de los casos porque se desarrolló una hipertrofia en la mucosa adyacente al tornillo, que generaba molestias al paciente. En los tres restantes, el minitornillo se aflojó y comenzó a tener movilidad, por tanto no estaba ejerciendo su correcta función. El fracaso de los minitornillos en la cavidad oral, es algo que puede ocurrir, de manera frecuente, debido a varios factores entre los que se incluyen la edad, sexo, longitud (cuanto más largo menos fracaso), diámetro, el lugar de inserción, si es en maxilar o mandíbula, la movilidad tisular (tejido firme o móvil), inflamación, la proximidad de la raíz del diente, la pericia del profesional al colocarlo y higiene del paciente. [81,384,385] En nuestro caso (tanto el que indujo una hipertrofia en la mucosa, como los tres que se aflojaron), sabemos que el fracaso no fue por la longitud ni tamaño del tornillo, porque al reinsertarlo en una nueva posición se mantuvo estable el resto del tratamiento. Tampoco por la fuerza aplicada, ya que fue la misma a lo largo de todo el proceso de intrusión, por tanto probablemente los factores que influyeron fueron la región anatómica o la higiene del paciente.

En comparación con los implantes tradicionales, los minitornillos de ortodoncia tienen una tasa de fallo relativamente alta, variando de 16,4% [386] a 39%; [387] de acuerdo con las revisiones recientes. Se cree que la tasa de fracaso promedio es inferior al 20%. [384,385,388] En la revisión sistemática realizada por Alharbi y cols., vieron que la tasa de fracaso de los minitornillos es relativamente baja, de un 13,5%, con un intervalo de confianza del 95% (11,5–15,9). Además, demostraron que el diámetro, longitud y diseño de los minitornillos, así como la edad del paciente tiene un efecto mínimo sobre tasa de fallo de los minitornillos mientras que el tipo de encías y el lugar de inserción tienen un papel importante. Mohammed y cols. a partir de en su revisión sistemática, concluyeron que los minitornillos insertados en la zona palatina media tienen una tasa de fracaso de 1,3% y los insertados en el arco cigomático tienen una tasa de fallo del 16,4%. Los minitornillos interradiculares insertados entre los primeros molares y los segundos premolares tienen una tasa de fallo del 9,2% para los insertados en el maxilar y 13,5% para los insertados en el mandíbula. La evidencia científica indica que el

contacto con la raíz del diente es un factor de riesgo importante que contribuye a la fracaso de los miniimplantes. [389,390]

A día de hoy, los minitornillos tienen la capacidad de recibir carga inmediata es decir, desde el momento de su colocación se pueden cargar funcionalmente, empezar a recibir fuerzas, sin esperar un tiempo a que se integren en el hueso y sin necesidad de una fase de cicatrización. Durante años ha existido controversia entre aquellos que apoyaban la carga inmediata y los que defendían esperar aproximadamente 15 días para comenzar a ejercer la fuerza. [391] Pero los estudios recientes demuestran que una carga inmediata favorece el contacto con el hueso adyacente y fomenta la calidad del anclaje. [392-395]

En un principio se propuso un protocolo derivado del propuesto por Branemark en implantes [396] ,donde se daba importancia a un periodo de curación previo a la carga del tornillo. [397,398] Posteriormente se realizaron varios estudios que demostraban que no se producía un aflojamiento del minitornillo en ortodoncia incluso cuando estos eran cargados inmediatamente, [399,400] por lo que se sugirió un protocolo de carga inmediata para minitornillos de ortodoncia. Melsen y Costa realizaron un estudio en animales para valorar la reacción del tejido situado alrededor de los minitornillos cargados inmediatamente y concluyeron que era posible utilizar la carga inmediata en los minitornillos utilizados como un anclaje intraoral extra en ortodoncia. [401] Por otro lado análisis histomorfométricos han demostrado que la carga inmediata de los miniimplantes puede ayudar a activar la remodelación ósea y aumentar el contenido mineral en la región cargada. [393,402-404]

En nuestro estudio se ha procedido a cargar los tornillos inmediatamente cuando se colocaron en boca, sin observarse un incremento en el porcentaje de fracasos. De esta manera, el minitornillo desde el primer momento queda recubierto por la ligadura elástica desde el que se empieza a traccionar, disminuyendo así el posible roce que pueda tener la cabeza del tornillo con la lengua, cuando se coloca en palatino, o con la mucosa vestibular. También de esta forma, se reducen el número de visitas del paciente.

El uso de muelles o cadenetas elásticas para realizar el movimiento de intrusión es similar respecto a la cantidad de intrusión, velocidad y tipo de movimiento. Las diferencias a la hora de elegir uno u otro material son que las cadenetas elásticas por su composición y porosidad retienen más placa bacteriana [39] que los muelles. Por tanto en función del estado periodontal del paciente y la higiene oral se decidirá si es adecuado

utilizar este tipo de cadeneta. Por el contrario los muelles, al ser metálicos, tienen la ventaja de retener menos placa pero son más incómodos para el paciente ya que rozan y se clavan más en las mucosas y en la lengua, cosa que con las cadenetas elásticas no sucede ya que son más finas, planas y flexibles. [40,41]

Al comienzo de este estudio se propuso usar muelles para realizar la intrusión, sobre todo para favorecer el control de la higiene oral. Sin embargo, en los primeros pacientes vimos que surgían muchísimas urgencias, los muelles se caían, a los pacientes se les generaba una inflamación en las zonas de contacto grande y estaban incómodos. Como realmente la cadeneta elástica no toca prácticamente la superficie del diente debido a la forma de realizar la tracción al minitornillo (nosotros no pasamos una única cadeneta de vestibular a palatino, lo cual origina una gran superficie de contacto del plástico con el diente, si no que se coloca una para realizar la tracción por vestibular y otra diferente para realizar la tracción por palatino) finalmente decidimos utilizar este material para traccionar y evitar tantas urgencias y tener que parar la intrusión cada semana prácticamente porque al paciente se le había caído o le molestaba el muelle.

La distancia de intrusión media obtenida en el presente estudio, así como el tiempo en que el proceso fue activo, es similar al reportado por otros estudios en la literatura. Tasanapanot y cols. [382] en su estudio realizado durante 14 meses, establecieron que la tasa media de intrusión del primer molar maxilar a las 12 semanas del inicio del tratamiento fue de 0,3 mm a 1,13 mm; Yao y cols. [93] mostraron que el promedio de intrusión de los molares superiores con minitornillos fue de 3 a 4 mm y la duración promedio del tratamiento de la intrusión activa fue de 7,6 meses con un rango de 5 a 12 meses; Li y cols., [38] vieron que la cantidad de intrusión en el primer molar maxilar fue 3,30±1,6 mm, en un tiempo de entre 4 a 9 meses con una duración promedio de 6,8 meses y finalmente Akl y cols. [92] observaron que tras 6 meses de duración, la intrusión media fue de 2,42 a 2,06 mm en un grupo y de 2,26 a 1,87 mm en el otro en función de la fuerza aplicada. En nuestro estudio, en el grupo control la distancia intruída fue 2,95±0,17 mm y en el grupo láser fue 2,31±0,65 mm tras 6 meses de duración del procedimiento de intrusión.

Hasta hace poco, algunos estudios han sugerido que el movimiento intrusivo ortodóncico, supone un riesgo para el estado periodontal, como por ejemplo, una posible conversión de la placa supragingival en placa subgingival por el movimiento

intrusivo, desencadenando esto la destrucción de los tejidos periodontales después del tratamiento de ortodoncia. [17] Bayani et al, han evaluado las variables clínicas y periodontales tras la intrusión molar con minitornillos, concluyendo que el uso de esta técnica puede ser un nuevo método no invasivo para la mejora del estado periodontal de los molares extruidos ya que las variables periodontales no muestran cambios significativos durante el tratamiento. [405] Se ha visto que el movimiento vertical de los molares extruidos puede solucionar algunos defectos óseos en pacientes periodontales, logrando a su vez eliminar la necesidad de regeneración ósea con cirugías posteriores. [406] Khorsand A y cols. [84] concluyeron que en pacientes con periodontitis agresiva tratados con intrusión molar, el estado periodontal se mantenía estable, siempre que el paciente mantuviese unos hábitos de higiene adecuados y acudiese a todas sus visitas de control, obteniendo unos resultados favorables respecto al movimiento intrusivo. [407]

Por tanto el movimiento de intrusión según la literatura reciente, resulta seguro desde el punto de vista periodontal, siempre y cuando sea controlado, las visitas estén correctamente protocolizadas, los movimientos se realicen con las fuerzas adecuadas y siempre que se haga un control exhaustivo de la higiene oral por parte del ortodoncista y del paciente. En este punto, conviene señalar también que los resultados de este estudio muestran que el tratamiento complementario con FBM mejoró de manera visual el IP, SS y PS del molar a intruir y de los dientes adyacentes, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas intergrupos, debido al buen estado periodontal de los pacientes seleccionados y al adecuado control de la higiene oral por parte de todos ellos a lo largo del estudio, independientemente del grupo asignado.

Actualmente cada vez se incrementa más el número de estudios en los que se muestra que la FBM acelera diversos tipos de movimientos ortodóncicos [129,408,409] . Impellizzeri y cols., demostraron que la FBM es una herramienta capaz de acelerar de manera estadísticamente significativa el desplazamiento distal de los caninos. [410] También se ha observado además que la FBM es beneficiosa para controlar la recidiva tras una expansión maxilar y se recomienda aplicarla durante este tratamiento para conseguir unos resultados duraderos a largo plazo. [411] Así mismo, se ha demostrado que la FBM ayuda a disminuir el tiempo para resolver el apiñamiento dentario. Shaughnessy y cols., vieron que la tasa de alineación media para el grupo de FBM fue significativamente mayor que la del grupo de control y que el tiempo de tratamiento hasta la alineación fue significativamente menor para el grupo FBM. [412]

Nuestro grupo de investigación realizó previamente un estudio evaluando el efecto de la FBM en la retracción de primeros premolares del maxilar, en el que sí que se observó que la radiación láser aceleraba dicho movimiento en los primeros estadíos. [413] En el presente estudio, aunque hemos aplicado un protocolo de dosificación de la radiación láser/diente similar al protocolo empleado en nuestro trabajo anterior, no hemos observado diferencias entre los grupos. Los datos obtenidos en la primera mitad del estudio (0-3 meses), muestran que la velocidad de intrusión en el grupo control fue superior, mientras que en la segunda mitad del estudio (3-6 meses) la velocidad fue prácticamente la misma en ambos grupos. En nuestro estudio llevamos a cabo la terapia de FBM empleando radiación láser en modo continuo emitiendo en el rojo a una longitud de onda de 670 nm, potencia de 150 mW, fluencia estimada de 11,3 J/cm^2 barriendo lentamente el perímetro gingival del molar a intruir durante 1 min, repitiendo el proceso 12 veces. En este punto, es importante tener en cuenta que el aplicador de luz configurado como sonda periodontal puede provocar una pérdida de energía significativa que no podría calcularse con precisión. La frecuencia de las sesiones de radiación láser se estableció siguiendo el mismo patrón de nuestros estudios anteriores. [370,414]

En un estudio publicado recientemente sobre el movimiento de intrusión del primer molar superior con y sin FBM adyuvante, en pacientes con un rango de edad entre 35 y 65 años, se utilizó una radiación láser de espectro infrarrojo cercano con una longitud de onda de λ = 808 nm, 110 mW y aplicando 25 J/cm^2 que se aplicó en 10 puntos en el tejido gingival (cinco puntos por vestibular y cinco por palatino) y se vio que la cantidad de intrusión fue mayor en el grupo de FBM. [415] Se puede considerar que existen factores intrínsecos (edad, sexo, influencia genética, enfermedades sistémicas...) y extrínsecos (diferencias en el protocolo de aplicación de la fuerza de ortodoncia, el error del sistema de medida...) que podrían influir en los resultados más que la aplicación complementaria de FBM. [416,417]

Para medir la distancia intruída tenemos varias técnicas, en función de si queremos medir únicamente la cantidad de intrusión a nivel de la corona clínica: un simple calibre, toma de registros dentales con alginato o silicona, o un escáner intraoral; o bien a nivel del diente en toda su totalidad: CBCT. Dentro de las que aportan mayor fiabilidad tenemos las que son en 3D. Los archivos STL obtenidos a partir de un escáner intraoral, nos permiten tener una representación 3D de la boca del paciente y estableciendo un eje de coordenadas, mediante superposiciones, valorar la cantidad de

intrusión a nivel de la corona clínica. Es un método fiable siempre y cuando el resto de dientes no se vean afectados por un tratamiento de ortodoncia, ya que necesitamos tomar puntos de referencia estables a lo largo del tiempo para poder realizar una correcta superposición, por tanto necesitaremos los dientes de esa arcada, en ocasiones, como puntos de referencia [36,88,383] En una medición basada en un CBCT tomamos como referencia para realizar las superposiciones puntos situados en estructuras óseas que no se ven afectadas por el tratamiento en el tiempo, por tanto la superposición es completamente fiable y la cantidad de intrusión exacta.[36] Los registros obtenidos con CBCT, además de ser más fiables, aportan más información, como por ejemplo el estado de las raíces post-intrusión, dato que conviene tener en cuenta. Sin embargo, el empleo de CBCT implica la aplicación de radiación extra al paciente, por lo cual su uso siempre tiene que estar justificado.

La intrusión de los dientes posteriores es un movimiento complejo debido a la anatomía de sus raíces y la falta de anclaje. Para evitar movimientos indeseables y reabsorción radicular, se deben aplicar fuerzas ligeras y constantes y controlar el grado y la dirección de dichas fuerzas.[418] La FBM controla la inflamación local e induce a la curación del tejido periodontal, por lo tanto podría prevenir la reabsorción radicular durante el tratamiento de ortodoncia [175,181] Aplicar FBM a medida que se intruye el molar podría reparar la reabsorción radicular, aumentando la expresión de OPG en el área de compresión y disminuyendo el número de osteoclastos en la superficie radicular.[175]

Yao y cols. [6] evaluaron la intrusión de primeros y segundos molares superiores con minitornillos [93] a través de cefalometrías laterales pre y post-tratamiento. Las mediciones (dos lineales y una angular) se utilizaron para evaluar los cambios dentales en los molares sobreerupcionados. Se sabe que incluso en un entorno ideal en el que la radiografía esté perfectamente tomada, con la cabeza del paciente siempre en la misma posición, puede haber errores asociados a un ligero movimiento del paciente durante la toma de la radiografía, errores en el procesamiento etc., lo cual deriva en errores en longitud del diente y su morfología. Asimismo, emplearon radiografías panorámicas también pre y postratamiento para evaluar la reabsorción radicular durante el movimiento de intrusión. Con este método de medición observaron limitaciones, como la imposibilidad de medir de manera fiable la reabsorción de la raíz palatina del primer molar superior así como reabsorciones pequeñas (<0,5 mm) en las raíces mesio y disto

vestibulares, por la poca precisión y calidad de la radiografía 2D. Heravi y cols. [90] observaron que en prácticamente todos los estudios en humanos sobre intrusión molar con anclaje esquelético, no se usó un método fiable para calcular la cantidad de intrusión y la resorción radicular ya que la mayoría utilizaron medidas obtenidas a partir de radiografías panorámicas o periapicales, así como cefalometrías a partir de telerradiografías laterales de cráneo, pre y postratamiento. [419-421] Por este motivo, ellos utilizaron para analizar la intrusión y la reabsorción radicular de primeros molares superiores, radiografías periapicales tomadas con bloques de mordida para intentar que todas fuesen paralelas entre si y obtener resultados fiables, sabiendo que aun así, con este método se puede introducir un pequeño error de posicionamiento. Se determinaron dos puntos de referencia en los dientes adyacentes y se usó una línea que los conectaba como eje de referencia para realizar las mediciones. [90] El inconveniente es que estos puntos en dientes adyacentes solo se pueden tomar como referencia si esos dientes no van a ser movidos con un tratamiento de ortodoncia, ya que si es así se perdería la referencia. Este problema con un CBCT se solucionaría, ya que se toman como referencia estructuras óseas, no dentales.

La identificación de los puntos de referencia se considera la principal fuente de error inherente al procedimiento de medición. Este error da como resultado que los métodos de imagen bidimensionales convencionales sobreestimen la reabsorción radicular después del tratamiento de ortodoncia. [422,423]

En una revisión de Chan y Darendeliler, [424] concluyeron tras analizar varios artículos publicados, que la radiografía 2D podría ser un buena herramienta de diagnóstico, pero no de evaluación cuantitativa de la reabsorción radicular. Y ponen de manifiesto la necesidad de imágenes 3D para poder cuantificar correctamente estos valores. Al comparar la precisión del CBCT con la de las radiografías periapicales, varios estudios mostraron que el método tridimensional era más efectivo y preciso. [425-428]

La aparición de las nuevas tecnologías 3D que permiten una monitorización muy precisa del movimiento y de los cambios posicionales han revolucionado el campo de la ortodoncia. Se ha demostrado que a partir de un CBCT se obtienen imágenes tridimensionales de los dientes, de alta definición, más precisas que con las radiografías convencionales. El CBCT tiene una particular aplicación en la evaluación de la reabsorción radicular, [429] ya que las imágenes al no presentar distorsión permiten

realizar una correcta superposición de las raíces y valorar su reabsorción. El CBCT proporciona una alternativa de dosis más baja y de mayor precisión a la TC convencional, por este motivo se está utilizando cada vez con mayor frecuencia en la práctica de la ortodoncia. Los estudios que han evaluado la reabsorción radicular usando CBCT [37] han demostrado que se produce en las partes mesial, distal y bucal de las raíces, [430] por lo tanto, es necesario detectar cuantitativamente y medir la reabsorción radicular desde una perspectiva tridimensional.

Actualmente, en la literatura existen varios estudios que cuantifican la reabsorción radicular de las 3 raíces del molar intruído mediante los registros de CBCT tomados antes y después de la intrusión, midiendo la diferencia entre la longitud de cada raíz antes y después de la intrusión. [415] Nimere y cols. [431] calcularon la reabsorción radicular midiendo la longitud total del diente antes y después del tratamiento de ortodoncia. Se midió la longitud total de cada diente desde el punto más alto en la corona hasta el punto más alto del ápice de la raíz. La diferencia entre ambos daba el resultado de la cantidad de reabsorción. Al-Falahi y cols. [35] , realizaron mediciones longitudinales desde imágenes en 3D, para calcular la reabsorción radicular en los primeros molares superiores. Para el primer molar superior, se realizaron las siguientes medidas: tanto para la raíz mesiovestibular, distovestibular y palatina se midió la distancia lineal entre la cúspide mesiovestibular, distovestibular o palatina y el ápice de la raíz mesiovestibular, distovestibular y palatina respectivamente, observándose como el CBCT proporcionaba una buena visualización de todas las raíces examinadas en los tres planos del espacio, especialmente de las raíces palatinas de los dientes posteriores, sin errores de superposición o aumento. Es un hecho generalizado que hasta hace muy poco, la mayoría de los estudios, para evaluar la reabsorción radicular con CBCT se han centrado en medir la longitud de los dientes pre y post-tratamiento. [37,430]

En el presente estudio se pretendió llevar un protocolo parecido, pero nos encontramos con un problema, ya que para valorar la reabsorción radicular a partir de las imágenes obtenidas de un CBCT, se necesita eliminar de la imagen todo el hueso que rodea a la raíz del diente para ver los ápices en su total dimensión y longitud. En el proceso para eliminar el hueso de alrededor, los programas informáticos no son capaces de diferenciar con exactitud lo que es hueso de lo que es ápice, por eso los valores que se aportan siempre serán aproximados. Ya que un corte absoluto a través del eje longitudinal del diente es extremadamente difícil, cuantificar la reabsorción de la raíz a

partir de los registros de CBCT desde una perspectiva 3D y por tanto, mediante medidas volumétricas puede ofrecer una solución. Li y cols., evaluaron cuantitativamente la resorción radicular después de la intrusión molar mediante la medición volumétrica basada en CBCT, concluyendo que las mediciones de volumen usando CBCT podrían evaluar correctamente la resorción radicular causada por el movimiento de intrusión con minitornillos. [383] Basándonos en este estudio y, para no desaprovechar la información de nuestros registros de CBCT pre y post-intrusión, se optó por llevar a cabo medidas volumétricas en vez de longitudinales para tener constancia del fenómeno de la reabsorción radicular durante la intrusión y para ver si la FBM aplicada conjuntamente, era capaz de reducir dicho proceso. De este modo aunque obtuvimos unos valores aproximados, estos resultados nos sirvieron para confirmar una tendencia en la reducción del volumen del molar al finalizar el tratamiento, en ambos grupos (control y FBM), siendo la reducción algo inferior aunque no estadísticamente significativa en el grupo implementado con FBM.

En un trabajo reciente y similar al aquí discutido, se investigó también los efectos de la FBM en el movimiento de intrusión de molares superiores, con respecto a la reabsorción radicular. Para evaluar si se produjo reabsorción, se tomaron medidas lineales a partir de las imágenes obtenidas de tomografías computarizadas (TC) realizadas antes y después del tratamiento. Se obtuvieron diferencias significativas entre las medidas de longitud tomadas antes y después de la intrusión de todas las raíces en los pacientes tratados ortodóncicamente sin FBM complementaria, pero no así en el grupo complementado con FBM. Al comparar el acortamiento de la raíces mesiovestibulares y distovestibulares entre ambos grupos, se observó un acortamiento significativo en el grupo tratado exclusivamente con ortodoncia. Sin embargo no se observaron diferencias entre grupos en cuanto al acortamiento de la raíz palatina. [415]

De acuerdo con la ley de Arndt-Schultz, que enfatiza la necesidad de aplicar la dosis adecuada de energía fotónica, para lograr el efecto deseable, varios estudios sugieren un efecto inhibidor de la FBM a partir de dosis de energía superiores a 12 J/cm^2. [432] Sin embargo, hay que tener en cuenta que la luz se dispersa, cuando atraviesa los tejidos hasta que alcanza el tejido diana, llegando solo entre el 3-6% de la energía luminosa a dicha zona. [433] Determinar la dosis más eficaz de FBM sigue siendo uno de los temas más controvertidos. En la literatura se han utilizado muchas dosis de energía diferentes entre 2 y 54 J/cm^2 y se ha demostrado que tienen resultados efectivos. [434] Los

resultados aquí obtenidos indican que los parámetros láser utilizados producen una leve mejoría en los índices periodontales, principalmente en SS, y una menor reabsorción radicular durante el tratamiento de ortodoncia para la intrusión molar. Se necesitan más estudios que demuestren que la FBM tiene efectos inhibidores y si tales efectos están relacionados con una tasa inicial de movimiento más baja. [435] En estos estudios, la evaluación del efecto dosis-dependiente de la FBM podría permitir reducir el elevado tiempo de exposición aquí aplicado y así mejorar la aplicabilidad del procedimiento.

Es importante mencionar que no existe consenso sobre las pautas de tratamiento óptimas cuando se utiliza FBM en cuanto a dosimetría, intervalos de luz o longitud de onda óptima. Una aplicación más continua de FBM durante el período de intrusión utilizando una radiación láser con una longitud de onda más penetrante (IR cercano) y administrada mediante otro sistema (diferente de una sonda periodontal) para no limitar los efectos solo al área gingival, podría mejorar los resultados de la FBM en la intrusión molar. Aumentar el tamaño de la muestra y hacerla más homogénea en cuanto a edades es otro punto a tener en cuenta. Este trabajo sirve como base para el desarrollo de mejores protocolos.

C2B.4. CONCLUSIONES

1. La aplicación complementaria de FBM al tratamiento ortodóncico de intrusión molar mejoró los valores de los índices periodontales estudiados, generó una menor progresión de la reabsorción radicular, una menor tasa de movimiento intrusivo durante los primeros 3 meses y una tasa similar durante los siguientes 3 meses.

2. El escáner intraoral 3D y el CBCT fueron igualmente efectivos para medir con precisión la distancia de intrusión. Por lo tanto, el uso del escáner intraoral sería suficiente (para evitar una irradiación adicional al paciente), excepto si fuera necesario medir otros parámetros.

3. Este estudio clínico constituye una base sólida para implementar modificaciones en el protocolo de aplicación de la FBM durante el tratamiento intrusivo, con el fin de mejorar su efectividad.

7. CONCLUSIÓN GENERAL

Los resultados expuestos en esta Memoria demuestran que la aplicación complementaria de TFD y FBM durante el tratamiento ortodóncico produce beneficios sin generar ningún tipo de efecto adverso. Una vez comprobada su total seguridad, se necesita mejorar su efectividad. Los estudios aquí descritos pueden sentar una base para el desarrollo de futuros trabajos con el objetivo de establecer un protocolo de acción más efectivo que se traduzca en un efecto clínico más significativo. La TFD puede competir con el US, manteniendo su efectos profilácticos a nivel gingival durante un tiempo más prolongado, permitiendo una recuperación más rápida del estado periodontal inicial, una vez que se han desarrollado signos de inflamación gingival durante un tratamiento ortodóncico de larga duración. La FBM muestra potencial para disminuir los efectos secundarios del tratamiento ortodóncico, por su capacidad para mejorar los parámetros clínicos periodontales, disminuir la inflamación y reducir la reabsorción radicular.

8. REFERENCIAS

1. Canut Brusola JA. *Ortodoncia clinica.* Barcelona: Salvat Editores; 1988:vi, 509 pages.

2. Rygh P. Ultraestructural changes of the periodontal fibers and their attachment in rat molar periodontum inciden to orthodontic tooth movement. *Scand J Dent Res*. 1973(82):57-281.

3. Garlet TP, Coelho U, Silva JS, Garlet GP. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *Eur J Oral Sci*. 2007;115(5):355-362.

4. Thomson BM, Saklatvala J, Chambers TJ. Osteoblasts mediate interleukin 1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *J Exp Med*. 1986;164(1):104-112.

5. Will LA. Orthodontic tooth movement: A historic prospective. *Frontiers of Oral Biology*. 2015;18:46-55.

6. Masella RS, Meister M. Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006;129(4):458-68.

7. Stevens BH, Levine RA. Forced eruption: A multidisciplinary approach for form, function, and biologic predictability. *Compend Contin Educ Dent*. 1998;19(10):994-4 passim.

8. Antrim DD. Vertical extrusion of endodontically treated teeth. *US Navy Med*. 1981(72):23-8.

9. Heithersay GS. Combined endodontic-orthodontic treatment of transverse root fractures in the region of the alveolar crest. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1973;36(3):404-415.

10. Regev E, Lustmann J, Nashef R. Atraumatic teeth extraction in bisphosphonate-treated patients. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(6):1157-1161.

11. Ross SE, Malamed EH, Amsterdam M. The contiguous autogenous transplant--its rationale, indications and technique. *Periodontics*. 1966;4(5):246-255.

12. Ingber JS. Forced eruption. I. A method of treating isolated one and two wall infrabony osseous defects-rationale and case report. *J Periodontol*. 1974;45(4):199-206.

13. Pizzo G, Licata ME, Guiglia R, Giuliana G. Root resorption and orthodontic treatment. review of the literature. *Minerva Stomatol*. 2007;56(1-2):31-44.

14. Graber TM, Vanarsdall RL, Vig KWL. *Ortodoncia principios y técnicas actuales.* 4a. ed. Madrid: Elsevier; 2006:XVI, 1213.

15. C G, Eliades T. Orthodontic dental intrusion: Indications, histological changes, biomechanical principles, possible side effects. *Hellenic Orthodontic Review*. 2003.

16. Marcotte MR. *Biomechanics in orthodontics.* Toronto: B.C. Decker; 1990:VII, 178.

17. Kipioti A, Gusberti F, Lang NP. Microbiological and clinical effects of orthodontic bands in children. *J Dent Res*. 1983;62:209-212.

18. Proffit WR. Contemporary orthodontics. 3rd edition, mosby, st louis. 2000:276-277.

19. Cattaneo PM, Dalstra M, Melsen B. Strains in periodontal ligament and alveolar bone associated with orthodontic tooth movement analyzed by finite element. *Orthod Craniofac Res*. 2009;12(2):120-128.

20. Zaoui F. Light forces and orthodontic displacement: A critical review. *Int Orthod*. 2009;7(1):3-13.

21. Van Leeuwen EJ, Kuijpers-Jagtman AM, Von den Hoff, J. W., Wagener FA, Maltha JC. Rate of orthodontic tooth movement after changing the force magnitude: An experimental study in beagle dogs. *Orthod Craniofac Res*. 2010;13(4):238-245.

22. Harris DA, Jones AS, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 8. volumetric analysis of root resorption craters after application of controlled intrusive light and heavy orthodontic forces: A microcomputed tomography scan study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006;130(5):639-647.

23. Killiany DM. Root resorption caused by orthodontic treatment: An evidence-based review of literature. *Semin Orthod*. 1999;5(2):128-133.

24. Han G, Huang S, Hoff, Johannes W Von den, Zeng X, Kuijpers-Jagtman AM. Root resorption after orthodontic intrusion and extrusion: An intraindividual study. *Angle Orthod.* 2005;75(6):912.

25. Brezniak N, Wasserstein A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. part I: The basic science aspects. *Angle Orthod*. 2002;72(2):175-179.

26. Abuabara A. Biomechanical aspects of external root resorption in orthodontic therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007 Dec 1;12(8):E610-3.*

27. Sameshima GT, Sinclair PM. Predicting and preventing root resorption: Part II. treatment factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2001;119(5):511-515.

28. Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006;129(4):469.e1-469.32.

29. Weltman B, Vig KW, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: A systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010;137(4):462-76; discussion 12A.

30. Jimenez-Pellegrin C, Arana-Chavez VE. Root resorption in human mandibular first premolars after rotation as detected by scanning electron microscopy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2004;126(2):178-5.

31. Faltin RM, Faltin K, Sander FG, Arana-Chavez VE. Ultrastructure of cementum and periodontal ligament after continuous intrusion in humans: A transmission electron microscopy study. *Eur J Orthod*. 2001;23(1):35-49.

32. Acar A, Canyürek U, Kocaaga M, Erverdi N. Continuous vs. discontinuous force application and root resorption. *Angle Orthod*. 1999;69(2):159-4.

33. Daimaruya T, Nagasaka H, Umemori M, Sugawara J, Mitani H. The influences of molar intrusion on the inferior alveolar neurovascular bundle and root using the skeletal anchorage system in dogs. *Angle Orthod*. 2001;71(1):60-70.

34. Lagravère MO, Carey J, Toogood RW, Major PW. Three-dimensional accuracy of measurements made with software on cone-beam computed tomography images. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008;134(1):112-116.

35. Al-Falahi B, Hafez AM, Fouda M. Three-dimensional assessment of external apical root resorption after maxillary posterior teeth intrusion with miniscrews in anterior open bite patients. *Dental Press J Orthod*. 2018;23(6):56-63.

36. Lee RJ, Pham J, Choy M, et al. Monitoring of typodont root movement via crown superimposition of single cone-beam computed tomography and consecutive intraoral scans. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2014;145(3):399-409.

37. Leite V, Conti AC, Navarro R, Almeida M, Oltramari-Navarro P, Almeida R. Comparison of root resorption between self-ligating and conventional preadjusted brackets using cone beam computed tomography. *Angle Orthod*. 2012;82(6):1078-82.

38. Li W, Chen F, Zhang F, Ding W, Ye Q, Shi J, Fu B. Volumetric measurement of root resorption following molar mini-screw implant intrusion using cone beam computed tomography. *PloS one*. 2013;8(4):e60962.

39. Pandis N, Vlachopoulos K, Polychronopoulou A, Madianos P, Eliades T. Periodontal condition of the mandibular anterior dentition in patients with conventional and self-ligating brackets. *Orthod Craniofac res*. 2008;11(4):211-5.

40. Gujar AN, Al-Hazmi A, Raj AT, Patil S. Microbial profile in different orthodontic appliances by checkerboard DNA-DNA hybridization: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2020;157(1):49-58.

41. Baka ZM, Basciftci FA, Arslan U. Effects of 2 bracket and ligation types on plaque retention: A quantitative microbiologic analysis with real-time polymerase chain reaction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2013;144(2):260-7.

42. Ao H, Deng X, She Y, Wen X, Wu Q, Chen F, Gao X. A biopsychosocial-cultural model for understanding oral-health-related quality of life among adolescent orthodontic patients. *Health Qual Life Outcomes*. 2020;18(1):86-y.

43. Costa MVC, Calderan MF, Cruvinel T. Could orthodontic fixed appliances and excess weight affect gingival health in adolescents? *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2020;157(2):172-177.

44. Antoun JS, Mei L, Gibbs K, Farella M. Effect of orthodontic treatment on the periodontal tissues. *Periodontol 2000*. 2017;74(1):140-157.

45. Tanner AC, Sonis AL, Lif Holgerson P, Starr JR, Nunez Y, Kressirer CA, Paster BJ, Johansson I. White-spot lesions and gingivitis microbiotas in orthodontic patients. *J Dent Res*. 2012;91(9):853-858.

46. Kim K, Heimisdottir K, Gebauer U, Persson GR. Clinical and microbiological findings at sites treated with orthodontic fixed appliances in adolescents. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010;137(2):223-228.

47. Sukontapatipark W, el-Agroudi MA, Selliseth NJ, Thunold K, Selvig KA. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. A scanning electron microscopy study. *Eur J Orthod*. 2001;23(5):475-484.

48. Garcez AS, Suzuki SS, Ribeiro MS, Mada EY, Freitas AZ, Suzuki H. Biofilm retention by 3 methods of ligation on orthodontic brackets: A microbiologic and optical coherence tomography analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011;140(4):193.

49. Feldens EG, Kramer PF, Feldens CA, Ferreira SH. Distribution of plaque and gingivitis and associated factors in 3- to 5-year-old brazilian children. *J Dent Child (Chic)*. 2006;73(1):4-10.

50. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. 1965;36:177-187.

51. Buschang PH, Chastain D, Keylor CL, Crosby D, Julien KC. Incidence of white spot lesions among patients treated with clear aligners and traditional braces. *Angle Orthod*. 2019;89(3):359-364.

52. Bollen AM, Cunha-Cruz J, Bakko DW, Huang GJ, Hujoel PP. The effects of orthodontic therapy on periodontal health: A systematic review of controlled evidence. *J Am Dent Assoc*. 2008;139(4):413-422.

53. Moolya NN, Shetty A, Gupta N, Gupta A, Jalan V, Sharma R. Orthodontic bracket designs and their impact on microbial profile and periodontal disease: A clinical trial. *J Orthod Sci*. 2014;3(4):125-131.

54. Cardoso Mde A, Saraiva PP, Maltagliati LÁ, Rhoden FK, Costa CC, Normando D, Capelozza Filho L. Alterations in plaque accumulation and gingival inflammation promoted by treatment with self-ligating and conventional orthodontic brackets. *Dental Press J Orthod*. 2015;20(2):35-41.

55. Folco AA, Benítez-Rogé SC, Iglesias M, Calabrese D, Pelizardi C, Rosa A, Brusca MI, Hecht P, Mateu ME. Gingival response in orthodontic patients: Comparative study between self-ligating and conventional brackets. *Acta Odontol Latinoam*. 2014;27(3):120-124.

56. Pellegrini P, Sauerwein R, Finlayson T, McLeod J, Covell DA Jr, Maier T, Machida CA. Plaque retention by self-ligating vs elastomeric orthodontic brackets: Quantitative comparison of oral bacteria and detection with adenosine triphosphate-driven bioluminescence. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;135(4):426.e1-7.

57. Lindel ID, Elter C, Heuer W, Heidenblut T, Stiesch M, Schwestka-Polly R, Demling AP. Comparative analysis of long-term biofilm formation on metal and ceramic brackets. *Angle Orthod*. 2011;81(5):907-914.

58. Migliorati M, Isaia L, Cassaro A, Rivetti A, Silvestrini-Biavati F, Gastaldo L, Piccardo I, Dalessandri D, Silvestrini-Biavati A. Efficacy of professional hygiene and prophylaxis on preventing plaque increase in orthodontic patients with multibracket appliances: A systematic review. *Eur J Orthod*. 2015;37(3):297-307.

59. Antezack A, Monnet-Corti V. Oral and periodontal hygiene in orthodontic patients. *Orthod Fr*. 2018;89(2):181-190.

60. Mistakidis I, Katib H, Vasilakos G, Kloukos D, Gkantidis N. Clinical outcomes of lingual orthodontic treatment: A systematic review. *Eur J Orthod*. 2016;38(5):447-458.

61. Rosvall MD, Fields HW, Ziuchkovski J, Rosenstiel SF, Johnston WM. Attractiveness, acceptability, and value of orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;135(3):1-12.

62. Papageorgiou SN, Keilig L, Hasan I, Jäger A, Bourauel C. Effect of material variation on the biomechanical behaviour of orthodontic fixed appliances: A finite element analysis. *Eur J Orthod*. 2016;38(3):300-307.

63. Kurz C, Bennett R. Scientific reports. *J Am Ung Orthod Assoc*. 1988(1).

64. Fujita K. New orthodontic treatment with lingual bracket mushroom arch wire appliance. *Am J Orthod*. 1979;76(6):657-675.

65. Takemoto K. Lingual orthodontic extrac clinical impressions. *Ormco Corp*. 1995;4(3):1-8.

66. Scuzzo G, Takemoto K. *Invisible orthodontics: Current concepts and solutions in lingual orthodontics.* 2003:130-143.

67. Fillion D, Leclerc JF. L´orthodontie invisible: L´orthodontie linguale. *Rev. Odontostomatol*. 1989(18):133-152.

68. Echarri P. *Ortodoncia lingual. parte VIII-b. materiales e instrumental utilizados y confort del paciente*; 2001:95-102.

69. Wiechmann D, Nesbit L. *iBraces/incognito™ clinical guide.* 3rd ed. Ruedger Rubber; 2006:14-15.

70. Ata-Ali F, Ata-Ali J, Ferrer-Molina M, Cobo T, De Carlos F, Cobo J. Adverse effects of lingual and buccal orthodontic techniques: A systematic review and meta-analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2016;149(6):820-829.

71. Walsh L, Healey D. Prevention and caries risk management in teenage and orthodontic patients. *Aust Dent J*. 2019;64(S1):S37-S45.

72. Azaripour A, Weusmann J, Mahmoodi B, Peppas D, Gerhold-Ay A, Van Noorden CJ, Willershausen B. Braces versus invisalign®: Gingival parameters and patients' satisfaction during treatment: A cross-sectional study. *BMC oral health*. 2015;15:69.

73. Mulla Issa F, Mulla Issa Z, Rabah AF, Hu L. Periodontal parameters in adult patients with clear aligners orthodontics treatment versus three other types of brackets: A cross-sectional study. *J OrthodSsci*. 2020;9:4.

74. Lombardo L, Arreghini A, Ramina F, Huanca Ghislanzoni LT, Siciliani G. Predictability of orthodontic movement with orthodontic aligners: A retrospective study. *Prog Orthod*. 2017;18(1):35-0.

75. Sugii MM, Barreto, Bruno de Castro Ferreira, Francisco Vieira-Júnior W, Simone KRI, Bacchi A, Caldas RA. Extruded upper first molar intrusion: Comparison between unilateral and bilateral miniscrew anchorage. *Dental Press J Orthod*. 2018;23(1):63-70.

76. Jones JP, Elnagar MH, Perez, Daniel E. Temporary skeletal anchorage techniques. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2020;32(1):27-37.

77. Flieger R, Gedrange T, Grzech-Leśniak K, Dominiak M, Matys J. Low-level laser therapy with a 635 nm diode laser affects orthodontic mini-implants stability: A randomized clinical split-mouth trial. *J Clin Med*. 2019;9(1):112.

78. Pan C, Liu P, Tseng Y, Chou S, Wu C, Chang H. Effects of cortical bone thickness and trabecular bone density on primary stability of orthodontic mini-implants. *J Dent Sci*. 2019;14(4):383-388.

79. Cheng SJ, Tseng IY, Lee JJ, Kok SH. A prospective study of the risk factors associated with failure of mini-implants used for orthodontic anchorage. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(1):100-6.

80. Carano A, Velo S, Leone P, Siciliani G. Clinical applications of the miniscrew anchorage system. *J Clin Orthod: JCO*. 2005;39(1):9-24.

81. Mecenas P, Espinosa DG, Cardoso PC, Normando D. Stainless steel or titanium mini-implants? A systematic review. *Angle orthod*. 2020.

82. Kyung HM, Park HS, Bae SM, Sung JH, Kim IB. Development of orthodontic micro-implants for intraoral anchorage. *J Clin Orthod: JCO*. 2003;37(6):321-8.

83. Scribante A, Montasser MA, Radwan ES, Bernardinelli L, Alcozer R, Gandini P, Sfondrini MF. Reliability of orthodontic miniscrews: Bending and maximum load of different ti-6Al-4V titanium and stainless steel temporary anchorage devices (TADs). *Materials (Basel)*. 2018;11(7):1138.

84. Brettin BT, Grosland NM, Qian F, Southard KA, Stuntz TD, Morgan TA, Marshall SD, Southard TE. Bicortical vs monocortical orthodontic skeletal anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008;134(5):625-635.

85. Melsen B, Verna C. Miniscrew implants: The aarhus anchorage system. *Semin Orthod*. 2005;11(1):24-31.

86. Herman R, Cope JB. Miniscrew implants: IMTEC mini ortho implants. *Semin Orthod*. 2005;11(1):32-39.

87. Arismendi, J. A., Ocampo A., Z. M., González G., F. J., & Morales B., M. Mini-implants as anchorage in orthodontics. *Revista Facultad De Odontología Universidad De Antioquia*. 2009;18(1):82-85.

88. Lee S, Jang S, Chun Y, Lim WH. Three-dimensional analysis of tooth movement after intrusion of a supraerupted molar using a mini-implant with partial-fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod*. 2013;83(2):274-279.

89. Park Y, Lee S, Kim D, Jee S. Intrusion of posterior teeth using mini-screw implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003;123(6):690-694.

90. Heravi F, Bayani S, Madani AS, Radvar M, Anbiaee N. Intrusion of supra-erupted molars using miniscrews: Clinical success and root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop: Supplement*. 2011;139(4 Supplement):S170-S175.

91. Pinzan-Vercelino CRM, Bramante FS, de Araújo Gurgel J, Vergani, Eliane Cristina Carrera Eleres, de Souza Gregório. Intrusion of maxillary molar using mini-implants: A clinical report and follow-up at 5 years. *J Prosthet Dent*. 2017;118(1):1-4.

92. Akl HE, Abouelezz AM, El Sharaby FA, El-Beialy AR, El-Ghafour MA. Force magnitude as a variable in maxillary buccal segment intrusion in adult patients with skeletal open bite: A double-blind randomized clinical trial. *Angle orthod*. 2020;90(4):507-515.

93. Yao CJ, Lee J, Chen H, Chang ZJ, Chang H, Chen Y. Maxillary molar intrusion with fixed appliances and mini-implant anchorage studied in three dimensions. *Angle orthod*. 2005;75(5):754.

94. Scheffler NR, Proffit WR. Miniscrew-supported posterior intrusion for treatment of anterior open bite. *J Clin Orthod: JCO*. 2014;48(3):158-68.

95. Lee H, Park Y. Treatment and posttreatment changes following intrusion of maxillary posterior teeth with miniscrew implants for open bite correction. *The Korean J Orthod*. 2008;38(1):31.

96. Taffarel IP, Meira TM, Guimarães LK, Antelo OM, Tanaka OM. Biomechanics for orthodontic intrusion of severely extruded maxillary molars for functional prosthetic rehabilitation. *Case Reports in Dentistry*. 2019;2019:1-8.

97. Kravitz ND, Kusnoto B, Tsay TP, Hohlt WF. The use of temporary anchorage devices for molar intrusion. *J Am Dent Assoc (1939)*. 2007;138(1):56-64.

98. Chinelatti M, Rocha C, Colucci V, Serra M, Rodrigues-Júnior A, Corona S. Effect of er:Yag laser on dentin demineralization around restorations. *Lasers Med Sci*. 2017;32(2):413-418.

99. Fried WA, Chan KH, Darling CL, Fried D. Use of a DPSS er:YAG laser for the selective removal of composite from tooth surfaces. *Biomed Opt Express*. 2018;9(10):5026-5036.

100. Natekar M, Raghuveer H, Rayapati D, Shobha ES, Prashanth NT, Rangan V, Panicker AG. A comparative evaluation: Oral leukoplakia surgical management using diode laser, CO2 laser, and cryosurgery. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(6):e779-e784.

101. Abduljabbar T, Javed F, Kellesarian SV, Vohra F, Romanos GE. Effect of nd:YAG laser-assisted non-surgical mechanical debridement on clinical and radiographic peri-implant inflammatory parameters in patients with peri-implant disease. J Photochem Photobiol B. 2017;168:16-19.

102. Namour M, El Mobadder M, Magnin D, Peremans A, Verspecht T, Teughels W, Lamard L, Nammour S, Rompen E. Q-switch nd:YAG laser-assisted decontamination of implant surface. *Dent J (Basel)*. 2019;7(99).

103. Sarmadi R, Andersson EV, Lingström P, Gabre P. A randomized controlled trial comparing er:YAG laser and rotary bur in the excavation of caries - patients' experiences and the quality of composite restoration. *Open Dent J*. 2018;12(1):443-454.

104. Kani E, Asimakopoulou K, Daly B, Hare J, Lewis J, Scambler S, Scott S, Newton JT. Characteristics of patients attending for cognitive behavioural therapy at one UK specialist unit for dental phobia and outcomes of treatment. *Br Dent J*. 2015;219(10):501-506.

105. de Almeida Neves A, Coutinho E, Cardoso MV, Lambrechts P, Meerbeek BV. Current concepts and techniques for caries excavation and adhesion to residual dentin. *J Adhes Dent*. 2011;13(1):7-22.

106. Matsumoto K, Hossain M, Hossain MM, Kawano H, Kimura Y. Clinical assessment of er,cr:YSGG laser application for cavity preparation. *J Clin Laser Med Surg*. 2002;20(1):17-21.

107. Colucci V, do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona SA. Water flow on erbium:Yttrium-aluminum-garnet laser irradiation: Effects on dental tissues. *Lasers Med Sci*. 2009;24(5):811-8.

108. Mirhashemi AH, Hossaini SMH, Etemadi A, Kharazifard MJ, Bahador A, Soudi A. Effect of er:YAG and er,cr:YSGG lasers on ceramic bracket debonding from composite blocks. *Front Dent*. 2019;16(2):88-95.

109. Janiszewska-Olszowska J, Szatkiewicz T, Tomkowski R, Tandecka K, Grocholewicz K. Effect of orthodontic debonding and adhesive removal on the enamel - current knowledge and future perspectives - a systematic review. *Med Sci Monit*. 2014;20:1991-2001.

110. Sutter E, Giacomelli-Hiestand B, Rücker M, Valdec S. CO2 laser application in stomatology. *Swiss Dent J*. 2019;129(3):214-215.

111. Bornstein MM, Suter VGA, Stauffer E, Buser D. The CO2 laser in stomatology. part 2. *Schweiz Monatsschr Zahnmed. 2003;113(7):766-85.*

112. Saydjari Y, Kuypers T, Gutknecht N. Laser application in dentistry: Irradiation effects of nd:YAG 1064 nm and diode 810 nm and 980 nm in infected root canals-A literature overview. *BioMed Res Int*. 2016;2016:8421656.

113. Dhawan S, Jasuja P, Khurana H, Gakhar E, Singh H. A comparative evaluation of the efficacy of erbium: Yttrium-aluminum-garnet and diode lasers in smear layer removal and dentin permeability of root canal after biomechanical preparation - A scanning electron microscopy study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2020;38(1):64-70.

114. Michiels R, Vergauwen TE, Mavridou A, Meire M, De Bruyne M, De Moor RJ. Investigation of coronal leakage of root fillings after smear-layer removal with EDTA or nd:YAG lasing through capillary-flow porometry. *Photomed Laser Surg*. 2010;28 Suppl 2:43.

115. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endod*. 1995;21(10):513-5.

116. Archilla JR, Moreira MS, Miyagi SP, Bombana AC, Gutknecht N, Marques MM. Single session of nd:YAG laser intracanal irradiation neutralizes endotoxin in dental root dentin. *J Biomed Opt*. 2012;17(11):118002.

117. Sağlam M, Köseoğlu S, Taşdemir I, Erbak Yılmaz H, Savran L, Sütçü R. Combined application of er:YAG and nd:YAG lasers in treatment of chronic periodontitis. A split-mouth, single-blind, randomized controlled trial. *J Periodontal Res*. 2017;52(5):853-862.

118. Gómez C, Domínguez A, García-Kass AI, García-Nuñez JA. Adjunctive nd:YAG laser application in chronic periodontitis: Clinical, immunological, and microbiological aspects. *Lasers Med Sci*. 2011;26(4):453-463.

119. Giannelli M, Bani D, Viti C, Tani A, Lorenzini L, Zecchi-Orlandini S, Formigli L. Comparative evaluation of the effects of different photoablative laser irradiation protocols on the gingiva of periodontopathic patients. *Photomed Laser Surg*. 2012;30(4):222-230.

120. Yukna RA, Carr RL, Evans GH. Histologic evaluation of an nd:YAG laser-assisted new attachment procedure in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007;27(6):577-587.

121. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Schauer P, Doertbudak O, Wernisch J, Sperr W. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg Med*. 1998;22(5):302-11.

122. Moritz A, Gutknecht N, Doertbudak O, Goharkhay K, Schoop U, Schauer P, Sperr W. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: A pilot study. *J Clin Laser Med Surg*. 1997;15(1):33-7.

123. Wang X, Sun Y, Kimura Y, Kinoshita J, Ishizaki NT, Matsumoto K. Effects of diode laser irradiation on smear layer removal from root canal walls and apical leakage after obturation. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(6):575-81.

124. Kocak E, Sağlam M, Arslan U, Kayis SA, Kebapcilar L, Loos BG, Hakki SS. Effect of diode laser application as an adjunct to nonsurgical periodontal therapy on the reduction of red complex microorganisms in type 2 diabetics with chronic periodontitis. *Lasers Med Sci.* 2020; 35(6):1403-1410.

125. Kamma JJ, Vasdekis VG, Romanos GE. The effect of diode laser (980 nm) treatment on aggressive periodontitis: Evaluation of microbial and clinical parameters. *Photomed Laser Surg*. 2009;27(1):11-9.

126. Ghodke PS, Hegde R, Ansari W, Muglikar S, Dholkawala A. A study to evaluate efficacy of 810nm diode laser in maintenance of dental implants: A peri-implant sulcular fluid (PISF) analysis. *J Oral Implantol*. 2020.

127. Qadri T, Miranda L, Tunér J, Gustafsson A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. *J Clin Periodontol*. 2005;32(7):714-719.

128. Heidari M, Fekrazad R, Sobouti F, Moharrami M, Azizi S, Nokhbatolfoghahaei H, Khatami M. Evaluating the effect of photobiomodulation with a 940-nm diode laser on post-operative pain in periodontal flap surgery. *Lasers Med Sci*. 2018;33(8):1639-1645.

129. Cronshaw M, Parker S, Anagnostaki E, Lynch E. Systematic review of orthodontic treatment management with photobiomodulation therapy. *Photob Photomed Laser Surg*. 2019;37(12):862-868.

130. Karu TI, Hode L. *Ten lectures on basic science of laser phototherapy.* Grängesberg: Prima Books; 2007:414 pages : illustrations (some color) ; 24 cm + 1 pamphlet (32 pages : color illustrations ; 22 cm).

131. Guram G, Reddy RK, Dharamsi AM, Syed Ismail PM, Mishra S, Prakashkumar MD. Evaluation of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement: A randomized control study. *Contemp Clin Dent*. 2018;9(1):105-109.

132. Ginani F, Soares D, Barreto M, Barboza C. Effect of low-level laser therapy on mesenchymal stem cell proliferation: A systematic review. *Lasers Med Sci*. 2015;30(8):2189-2194.

133. Karu TI, Pyatibrat LV, Afanasyeva NI. A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. *Photochem Photobiol*. 2004;80(2):366-372.

134. Tripodi N, Feehan J, Husaric M, et al. Good, better, best? the effects of polarization on photobiomodulation therapy. *J biophotonics*. 2020:e201960230.

135. Shoubridge EA. Cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Med Genet*. 2001;106(1):46-52.

136. Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(4):355-361.

137. Kim WS, Calderhead RG. Is light-emitting diode phototherapy (LED-LLLT) really effective? *Laser Ther*. 2011;20(3):205-215.

138. Chung H, Dai T, Sharma SK, Huang YY, Carroll JD, Hamblin MR. The nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. *Ann Biomed Eng*. 2012;40(2):516-533.

139. Huang YY, Chen AC, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response*. 2009;7(4):358-383.

140. Antunes F, Boveris A, Cadenas E. On the mechanism and biology of cytochrome oxidase inhibition by nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(48):16774-16779.

141. Karu TI, Pyatibrat LV, Afanasyeva NI. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide. *Lasers Surg Med*. 2005;36(4):307-314.

142. Lane N. Cell biology: Power games. *Nature*. 2006;443(7114):901-903.

143. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J*. 2009;417(1):1-13.

144. Chen AC, Arany PR, Huang YY, Tomkinson EM, Sharma SK, Kharkwal GB, Saleem T, Mooney D, Yull FE, Blackwell TS, Hamblin MR. Low-level laser therapy activates NF-kB via generation of reactive oxygen species in mouse embryonic fibroblasts. *PLoS One*. 2011;6(7):e22453.

145. Stephenson D, Yin T, Smalstig EB, Hsu MA, Panetta J, Little S, Clemens J. Transcription factor nuclear factor-kappa B is activated in neurons after focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000;20(3):592-603.

146. Hamblin MR. Mechanisms and mitochondrial redox signaling in photobiomodulation. *Photochem Photobiol*. 2018;94(2):199-212.

147. de Freitas LF, Hamblin MR. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. *IEEE J Sel Top Quantum Electron*. 2016;22(3):7000417.

148. Houreld NN, Ayuk SM, Abrahamse H. Expression of genes in normal fibroblast cells (WS1) in response to irradiation at 660nm. *J Photochem Photobiol B*. 2014;130:146-152.

149. Zhang Y, Song S, Fong CC, Tsang CH, Yang Z, Yang M. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. *J Invest Dermatol*. 2003;120(5):849-857.

150. Ayuk SM, Abrahamse H, Houreld NN. The role of photobiomodulation on gene expression of cell adhesion molecules in diabetic wounded fibroblasts in vitro. *J Photochem Photobiol B*. 2016;161:368-374.

151. Hemvani N, Chitnis DS, Bhagwanani NS. Effect of helium-neon laser on cultured human macrophages. *Laser therapy.* 1998;10(4):159.

152. Al Musawi MS, Jaafar MS, Al-Gailani B, Ahmed NM, Suhaimi FM, Suardi N. Effects of low-level laser irradiation on human blood lymphocytes in vitro. *Lasers Med Sci*. 2017;32(2):405-411.

153. Morgan MC, Rashid RM. The effect of phototherapy on neutrophils. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(4):383-388.

154. Hahm E, Kulhari S, Arany PR. Targeting the pain, inflammation and immune (PII) axis: Plausible rationale for LLLT. *Photonics & Lasers in Medicine*. 2012;1(4).

155. Alexandratou E, Yova D, Handris P, Kletsas D, Loukas S. Human fibroblast alterations induced by low power laser irradiation at the single cell level using confocal microscopy. *Photochem Photobiol Sci*. 2002;1(8):547-552.

156. AlShahrani I, Togoo RA, Hosmani J, Alhaizaey A. Photobiomodulation in acceleration of orthodontic tooth movement: A systematic review and meta analysis. *Complement Ther Med*. 2019;47:102220.

157. Snyder SK, Byrnes KR, Borke RC, Sanchez A, Anders JJ. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser treatment. *Lasers Surg Med*. 2002;31(3):216-222.

158. Moore P, Ridgway TD, Higbee RG, Howard EW, Lucroy MD. Effect of wavelength on low-intensity laser irradiation-stimulated cell proliferation in vitro. *Lasers Surg Med*. 2005;36(1):8-12.

159. Tong M, Liu Y-, Zhao X-, Yan C-, Hu Z-, Zhang Z-. Effects of different wavelengths of low level laser irradiation on murine immunological activity and intracellular Ca2+ in human lymphocytes and cultured cortical neurogliocytes. *Lasers Med Sci*. 2000;15(3):201-206.

160. Parisa Salehi, Sepideh Torkan, Sepideh Rezapour Gavareshki. Evaluating the effect of low energy laser irradiation on the rate of mandibular molar protraction in orthodontic patients. *J Res Med Dent Sci*. 2016;4(3):228-232.

161. Nicotra C, Polizzi A, Zappalà G, Leonida A, Indelicato F, Caccianiga G. A comparative assessment of pain caused by the placement of banded orthodontic appliances with and without low-level laser therapy: A randomized controlled prospective study. *Dent J*. 2020;8(1):24.

162. Imani MM, Golshah A, Safari-Faramani R, Sadeghi M. Effect of low-level laser therapy on orthodontic movement of human canine: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Acta Infor Med: AIM*. 2018;26(2):139-143.

163. Zein R, Selting W, Hamblin MR. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: Dive into complexity. *J Biomed Opt*. 2018;23(12):1-17.

164. Calderín S, Calderín S, García-Núñez J, García-Núñez J, Gómez C, Gómez C. Short-term clinical and osteoimmunological effects of scaling and root planing complemented by simple or repeated laser phototherapy in chronic periodontitis. *Lasers Med Sci*. 2013;28(1):157-166.

165. Gholami L, Asefi S, Hooshyarfard A, Sculean A, Romanos GE, Aoki A, Fekrazad R. Photobiomodulation in periodontology and implant dentistry: Part 2. *Photob Photomed Laser Surg*. 2019;37(12):766-783.

166. Obradović R, Kesić L, Mihailović D, Antić S, Jovanović G, Petrović A, Peševska S. A histological evaluation of a low-level laser therapy as an adjunct to periodontal therapy in patients with diabetes mellitus. *Lasers Med Sci*. 2013;28(1):19-24.

167. AboElsaad NS, Soory M, Gadalla LM, Ragab LI, Dunne S, Zalata KR, Louca C. Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of infra-bony defects (a clinical study). *Lasers Med Sci*. 2009;24(3):387-395.

168. da Silva Neves, F. L., Silveira CA, Dias SB, Santamaria Júnior M, de Marco AC, Kerbauy WD, de Melo Filho AB, Jardini MA, Santamaria MP. Comparison of two power densities on the healing of palatal wounds after connective tissue graft removal: Randomized clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2016;31(7):1371-1378.

169. Sonesson M, De Geer E, Subraian J, Petrén S. Efficacy of low-level laser therapy in accelerating tooth movement, preventing relapse and managing acute pain during orthodontic treatment in humans: A systematic review. *BMC oral health*. 2016;17(1):11.

170. Lopes LPB, Herkrath FJ, Vianna ECB, Gualberto Júnior EC, Marques AAF, Sponchiado Júnior EC. Effect of photobiomodulation therapy on postoperative pain after endodontic treatment: A randomized, controlled, clinical study. *Clin Oral Investig*. 2019;23(1):285-292.

171. Pinheiro ALB, Gerbi, Marleny Elizabeth M. M. Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(2):169-178.

172. Ekizer A, Türker G, Uysal T, Güray E, Taşdemir Z. Light emitting diode mediated photobiomodulation therapy improves orthodontic tooth movement and miniscrew stability: A randomized controlled clinical trial. *Lasers Surg Med*. 2016;48(10):936-943.

173. Cordeiro MM, Santos BZ, Reyes-Carmona JF, Figueiredo CP. Primary teeth show less protecting factors against root resorption. *Int J Paediatr Dent*. 2011;21(5):361-368.

174. Enhos S, Veli I, Cakmak O, Ucar FI, Alkan A, Uysal T. OPG and RANKL levels around miniscrew implants during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2013;144(2):203-209.

175. de Melo Conti C, Suzuki H, Garcez AS, Suzuki SS. Effects of photobiomodulation on root resorption induced by orthodontic tooth movement and RANKL/OPG expression in rats. *Photochem Photobiol*. 2019;95(5):1249-1257.

176. Yamaguchi M, Aihara N, Kojima T, Kasai K. RANKL increase in compressed periodontal ligament cells from root resorption. *J Dent Res*. 2006;85(8):751-756.

177. Tyrovola JB, Perrea D, Halazonetis DJ, Dontas I, Vlachos IS, Makou M. Relation of soluble RANKL and osteoprotegerin levels in blood and gingival crevicular fluid to the degree of root resorption after orthodontic tooth movement. *J Oral Sci*. 2010;52(2):299-311.

178. Zhang YY, Zhao HX, Chen ZB, Lin JX, Liu Y. Osteoprotegerin promotes cementoblastic activity of murine cementoblast cell line in vitro. *Chin J Dent Res*. 2016;19(2):103-108.

179. Ferreira FN, Gondim JO, Neto JJ, Dos Santos PC, de Freitas Pontes KM, Kurita LM, de Araújo MW. Effects of low-level laser therapy on bone regeneration of the midpalatal suture after rapid maxillary expansion. *Lasers Med Sci*. 2016;31(5):907-913.

180. da Fonseca EV, Bussadori SK, da Silva Martinho L, de Sousa Melo MC, de Andrade FL, Gonçalves MLL, Mesquita-Ferrari RA, Horliana ACRT, Fernandes KPS. Evaluation of photobiomodulation effects on pain, edema, paresthesia, and bone

regeneration after surgically assisted rapid maxillary expansion: Study protocol for a randomized, controlled, and double blind clinical trial. *Medicine*. 2019;98(48):e17756.

181. Fonseca PD, de Lima FM, Higashi DT, Koyama DF, Toginho Filho Dde O, Dias IF, Ramos Sde P. Effects of light emitting diode (LED) therapy at 940 nm on inflammatory root resorption in rats. *Lasers Med Sci*. 2013;28(1):49-55.

182. Suzuki SS, Garcez AS, Suzuki H, Ervolino E, Moon W, Ribeiro MS. Low-level laser therapy stimulates bone metabolism and inhibits root resorption during tooth movement in a rodent model. *J Biophotonics*. 2016;9(11-12):1222-1235.

183. Moan J, Peng Q. An outline of the hundred-year history of PDT. *Anticancer Res*. 2003;23(5A):3591-3600.

184. Santezi C, Reina BD, Dovigo LN. Curcumin-mediated photodynamic therapy for the treatment of oral infections-A review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;21:409-415.

185. Dougherty TJ. An update on photodynamic therapy applications. *J Clin Laser Med Surg*. 2002;20(1):3-7.

186. Kelly JF, Snell ME. Hematoporphyrin derivative: A possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. *J Urol*. 1976;115(2):150-151.

187. Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, Weishaupt KR, Boyle D, Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res*. 1978;38(8):2628-2635.

188. Hopper C. Photodynamic therapy: A clinical reality in the treatment of cancer. *Lancet Oncol*. 2000;1:212-219.

189. Brown SB, Brown EA, Walker I. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *Lancet Oncol*. 2004;5(8):497-508.

190. Wu H, Minamide T, Yano T. Role of photodynamic therapy in the treatment of esophageal cancer. *Dig Endosc*. 2019;31(5):508-516.

191. Naidoo C, Kruger CA, Abrahamse H. Photodynamic therapy for metastatic melanoma treatment: A review. *Technol Cancer Res Treat*. 2018;17:1533033818791795.

192. Griffin LL, Lear JT. Photodynamic therapy and non-melanoma skin cancer. *Cancers (Basel)*. 2016;8(10):98.

193. Kleinclauss F, Frontczak A, Balssa L, Lebdai S, Azzouzi R. Vascular targeted photodynamic therapy in low-risk prostate cancer. A literature review. *Prog Urol*. 2019;29(8-9):393-401.

194. Tosti G, Iacobone AD, Preti EP, Vaccari S, Barisani A, Pennacchioli E, Cantisani C. The role of photodynamic therapy in the treatment of vulvar intraepithelial neoplasia. *Biomedicines*. 2018;6(1):13.

195. Shafirstein G, Battoo A, Harris K, Baumann H, Gollnick SO, Lindenmann J, Nwogu CE. Photodynamic therapy of non-small cell lung cancer. narrative review and future directions. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13(2):265-275.

196. Mahmoudi K, Garvey KL, Bouras A, Cramer G, Stepp H, Jesu Raj JG, Bozec D, Busch TM, Hadjipanayis CG. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for the treatment of high-grade gliomas. *J Neurooncol*. 2019;141(3):595-607.

197. Banerjee SM, El-Sheikh S, Malhotra A, Mosse CA, Parker S, Williams NR, MacRobert AJ, Hamoudi R, Bown SG, Keshtgar MR. Photodynamic therapy in primary breast cancer. *J Clin Med*. 2020;9(2):483.

198. Meulemans J, Delaere P, Vander Poorten V. Photodynamic therapy in head and neck cancer: Indications, outcomes, and future prospects. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019;27(2):136-141.

199. Bliss JM, Bigelow CE, Foster TH, Haidaris CG. Susceptibility of candida species to photodynamic effects of photofrin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(6):2000-2006.

200. Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. *Arch Oral Biol*. 1992;37(11):883-887.

201. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: A new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3(5):436-450.

202. Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: State of the art. *J Photochem Photobiol B*. 2005;79(2):159-170.

203. O'Riordan K, Akilov OE, Hasan T. The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2005;2(4):247-262.

204. Donnelly RF, McCarron PA, Tunney MM, David Woolfson A. Potential of photodynamic therapy in treatment of fungal infections of the mouth. design and characterisation of a mucoadhesive patch containing toluidine blue O. *J Photochem Photobiol B*. 2007;86(1):59-69.

205. Di Poto A, Sbarra MS, Provenza G, Visai L, Speziale P. The effect of photodynamic treatment combined with antibiotic action or host defence mechanisms on staphylococcus aureus biofilms. *Biomaterials*. 2009;30(18):3158-3166.

206. van Dijk, E. H. C., van Rijssen TJ, Subhi Y, Boon CJF. Photodynamic therapy for chorioretinal diseases: A practical approach. *Ophthalmol Ther*. 2020;9(2):329-342.

207. Kimura T, Takatsuki S, Miyoshi S, et al. Optimal conditions for cardiac catheter ablation using photodynamic therapy. *Europace*. 2015;17(8):1309-1315.

208. Huang A, Nguyen JK, Austin E, Mamalis A, Cohen M, Semkhayev B, Ho D, Jagdeo J. Facial rejuvenation using photodynamic therapy with a novel preparation of ALA and hyaluronic acid in young adults. *Arch Dermatol Res*. 2020;312(8):567-573.

209. Fischoff D, Spivakovsky S. Photodynamic therapy for symptomatic oral lichen planus. *Evid Based Dent*. 2018;19(3):90-91.

210. Sharwani A, Jerjes W, Salih V, MacRobert AJ, El-Maaytah M, Khalil HS, Hopper C. Fluorescence spectroscopy combined with 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in detecting oral premalignancy. *J Photochem Photobiol B*. 2006;83(1):27-33.

211. Li Y, Wang B, Zheng S, He Y. Photodynamic therapy in the treatment of oral leukoplakia: A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;25:17-22.

212. Cerrati EW, Nguyen SA, Farrar JD, Lentsch EJ. The efficacy of photodynamic therapy in the treatment of oral squamous cell carcinoma: A meta-analysis. *Ear Nose Throat J*. 2015;94(2):72-79.

213. Hu X, Huang YY, Wang Y, Wang X, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy to control clinically relevant biofilm infections. *Front Microbiol*. 2018;9:1299.

214. Janeth Rimachi Hidalgo K, Carmello JC, Carolina Jordão C, Aboud Barbugli P, de Sousa Costa CA, Mima EGO, Pavarina AC. Antimicrobial photodynamic therapy in combination with nystatin in the treatment of experimental oral candidiasis induced by candida albicans resistant to fluconazole. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2019;12(3):140.

215. Henderson BW GS, Horspool WM, Lenci F. *Mechanistic principles of photodynamic therapy.* 2nd Ed ed. CRC Press, New York: CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology; 2004:chap 145.

216. Marina Nechifor, Teodora-Monica Neagu, Gina Manda. Reactive oxygen species, cancer and anti-cancer therapies. *Current chemical biology*. 2009;3(1):22-46.

217. Alves da Collina G, Freire F, da Silva Barbosa V, Bento Correa C, Reis Nascimento H, Ratto Tempestini Horliana AC, Teixeira da Silva DF, Araujo Prates R, Pavani C. Photodynamic antimicrobial chemotherapy action of phenothiazinium dyes in planktonic candida albicans is increased in sodium dodecyl sulfate. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;29:101612.

218. Huang L, Xuan Y, Koide Y, Zhiyentayev T, Tanaka M, Hamblin MR. Type I and type II mechanisms of antimicrobial photodynamic therapy: An in vitro study on gram-negative and gram-positive bacteria. *Lasers Surg Med*. 2012;44(6):490-499.

219. Tardivo JP, Del Giglio A, de Oliveira CS, Gabrielli DS, Junqueira HC, Tada DB, Severino D, de Fátima Turchiello R, Baptista MS. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2005;2(3):175-191.

220. Thompson SA, Aggarwal A, Singh S, Adam AP, Tome JPC, Drain CM. Compromising the plasma membrane as a secondary target in photodynamic therapy-induced necrosis. *Bioorg Med Chem*. 2018;26(18):5224-5228.

221. Kashef N, Huang Y, Hamblin MR. Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale. *Nanophotonics*. 2017;6(5):853-879.

222. Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppellotti O, Dei D, Fantetti L, Chiti G, Roncucci G. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: Basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med*. 2006;38(5):468-481.

223. Bertoloni G, Rossi F, Valduga G, Jori G, Ali H, van Lier JE. Photosensitizing activity of water- and lipid-soluble phthalocyanines on prokaryotic and eukaryotic microbial cells. *Microbios*. 1992;71(286):33-46.

224. Maisch T, Szeimies RM, Jori G, Abels C. Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3(10):907-917.

225. Nitzan Y, Salmon-Divon M, Shporen E, Malik Z. ALA induced photodynamic effects on gram positive and negative bacteria. *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3(5):430-435.

226. Kang SM, Jung HI, Kim BI. Susceptibility of oral bacteria to antibacterial photodynamic therapy. *J Oral Microbiol*. 2019;11(1):1644111.

227. Bourré L, Giuntini F, Eggleston IM, Mosse CA, Macrobert AJ, Wilson M. Effective photoinactivation of gram-positive and gram-negative bacterial strains using an HIV-1 tat peptide-porphyrin conjugate. *Photochem Photobiol Sci*. 2010;9(12):1613-1620.

228. Sperandio FF, Huang YY, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy to kill gram-negative bacteria. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*. 2013;8(2):108-120.

229. Wainwright M, Crossley KB. Photosensitising agents—circumventing resistance and breaking down biofilms: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2004;53(2):119-126.

230. Käsermann F, Kempf C. Photodynamic inactivation of enveloped viruses by buckminsterfullerene. *Antiviral Res*. 1997;34(1):65-70.

231. Moor AC, Wagenaars-van Gompel AE, Brand A, Dubbelman MA, VanSteveninck J. Primary targets for photoinactivation of vesicular stomatitis virus by AlPcS4 or Pc4 and red light. *Photochem Photobiol*. 1997;65(3):465-470.

232. Käsermann F, Kempf C. Buckminsterfullerene and photodynamic inactivation of viruses. *Rev Med Virol*. 1998;8(3):143-151.

233. Lambrechts SA, Aalders MC, Van Marle J. Mechanistic study of the photodynamic inactivation of candida albicans by a cationic porphyrin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(5):2026-2034.

234. Demidova TN, Hamblin MR. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(6):2329-2335.

235. St Denis TG, Dai T, Izikson L, Astrakas C, Anderson RR, Hamblin MR, Tegos GP. All you need is light: Antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease. *Virulence*. 2011;2(6):509-520.

236. Permpoonpattana P, Hong HA, Phetcharaburanin J, Huang JM, Cook J, Fairweather NF, Cutting SM. Immunization with bacillus spores expressing toxin A peptide repeats protects against infection with clostridium difficile strains producing toxins A and B. *Infect Immun*. 2011;79(6):2295-2302.

237. Smijs TG, Mulder AA, Pavel S, Onderwater JJ, Koerten HK, Bouwstra JA. Morphological changes of the dermatophyte trichophyton rubrum after photodynamic treatment: A scanning electron microscopy study. *Med Mycol*. 2008;46(4):315-325.

238. Paardekooper M, Van den Broek, P. J., De Bruijne AW, Elferink JG, Dubbelman TM, Van Steveninck J. Photodynamic treatment of yeast cells with the dye toluidine blue: All-or-none loss of plasma membrane barrier properties. *Biochim Biophys Acta*. 1992;1108(1):86-90.

239. Bhatta AK, Keyal U, Wang X, Gellén E. A review of the mechanism of action of lasers and photodynamic therapy for onychomycosis. *Lasers Med Sci*. 2017;32(2):469-474.

240. Ana Paula da Silva Fernanda M. Carbinatto Vanderlei S. Bagnato Natalia M. Inada. A promising strategy for the treatment of onychomycosis with curcumin and photodynamic therapy 2015;3(9):434-437.

241. Leite DP, Paolillo FR, Parmesano TN, Fontana CR, Bagnato VS. Effects of photodynamic therapy with blue light and curcumin as mouth rinse for oral disinfection: A randomized controlled trial. *Photomed Laser Surg*. 2014;32(11):627-632.

242. Bachmeier BE, Mohrenz IV, Mirisola V, Schleicher E, Romeo F, Höhneke C, Jochum M, Nerlich AG, Pfeffer U. Curcumin downregulates the inflammatory cytokines CXCL1 and -2 in breast cancer cells via NFkappaB. *Carcinogenesis*. 2008;29(4):779-789.

243. Park K, Lee JH. Photosensitizer effect of curcumin on UVB-irradiated HaCaT cells through activation of caspase pathways. *Oncol Rep*. 2007;17(3):537-540.

244. da Frota MF, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Bagnato VS, Espir CG, Berbert FL. Photodynamic therapy in root canals contaminated with enterococcus faecalis using curcumin as photosensitizer. *Lasers Med Sci*. 2015;30(7):1867-1872.

245. Dovigo LN, Carmello JC, de Souza Costa, C. A., Vergani CE, Brunetti IL, Bagnato VS, Pavarina AC. Curcumin-mediated photodynamic inactivation of candida albicans in a murine model of oral candidiasis. *Med Mycol*. 2013;51(3):243-251.

246. Dovigo LN, Pavarina AC, Carmello JC, Machado AL, Brunetti IL, Bagnato VS. Susceptibility of clinical isolates of candida to photodynamic effects of curcumin. *Lasers Surg Med*. 2011;43(9):927-934.

247. Soukos NS, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontol 2000*. 2011;55(1):143-166.

248. O'Connor AE, Gallagher WM, Byrne AT. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: Preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 2009;85(5):1053-1074.

249. Sridharan G, Shankar AA. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;16(2):251-255.

250. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 2001;74(5):656-669.

251. Allaker RP, Douglas CW. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33(1):8-13.

252. Tokubo LM, Rosalen PL, de Cássia Orlandi Sardi, J., Freires IA, Fujimaki M, Umeda JE, Barbosa PM, Tecchio GO, Hioka N, de Freitas CF, Suga Terada RS. Antimicrobial effect of photodynamic therapy using erythrosine/methylene blue combination on streptococcus mutans biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;23:94-98.

253. Tuite EM, Kelly JM. Photochemical interactions of methylene blue and analogues with DNA and other biological substrates. *J Photochem Photobiol B*. 1993;21(2-3):103-124.

254. Méndez DAC, Gutierrez E, Dionísio EJ, Oliveira TM, Buzalaf MAR, Rios D, Machado MAAM, Cruvinel T. Effect of methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic therapy on dentin caries microcosms. *Lasers Med Sci*. 2018;33(3):479-487.

255. de Santi M, Prates R, França C, Lopes RG, Sousa AS, Ferreira LR, Bussadori SK, Fernandes AU, Deana AM. Antimicrobial photodynamic therapy as a new approach for the treatment of vulvovaginal candidiasis: Preliminary results. *Lasers Med Sci*. 2018;33(9):1925-1931.

256. Huang Y, Wintner A, Seed PC, Brauns T, Gelfand JA, Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy mediated by methylene blue and potassium iodide to treat urinary tract infection in a female rat model. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1-9.

257. Ramalho KM, Rocha RG, Correa-Aranha AC, Cunha SR, Simões A, Campos L, Eduardo Cde P. Treatment of herpes simplex labialis in macule and vesicle phases with photodynamic therapy. report of two cases. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015;12(2):321-323.

258. de Paula Eduardo C, Aranha AC, Simões A, Bello-Silva MS, Ramalho KM, Esteves-Oliveira M, de Freitas PM, Marotti J, Tunér J. Laser treatment of recurrent herpes labialis: A literature review. *Lasers Med Sci*. 2014;29(4):1517-1529.

259. Honarmand M, Farhadmollashahi L, Vosoughirahbar E. Comparing the effect of diode laser against acyclovir cream for the treatment of herpes labialis. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(6):e729-e732.

260. Sperandio FF, Marotti J, Aranha AC, Eduardo Cde P. Photodynamic therapy for the treatment of recurrent herpes labialis: Preliminary results. *Gen Dent*. 2009;57(4):415-419.

261. Lago ADN, Furtado GS, Ferreira OC, Diniz RS, Gonçalves LM. Resolution of herpes simplex in the nose wing region using photodynamic therapy and photobiomodulation. *Photodiagnosis Photody Ther*. 2018;23:237-239.

262. Jiang C, Yang W, Wang C, et al. Methylene blue-mediated photodynamic therapy induces macrophage apoptosis via ROS and reduces bone resorption in periodontitis. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:1529520.

263. Maciel CM, Piva MR, Ribeiro MA, de Santana Santos T, Ribeiro CF, Martins-Filho PR. Methylene blue-mediated photodynamic inactivation followed by low-laser therapy versus miconazole gel in the treatment of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2016;25(1):28-32.

264. Kormeili T, Yamauchi PS, Lowe NJ. Topical photodynamic therapy in clinical dermatology. *Br J Dermatol*. 2004;150(6):1061-1069.

265. Moan J, Iani V, Ma L. Choice of the proper wavelength for photochemotherapy. *Proceedings of SPIE*. Jan 31, 1996;2625(1):544-549.

266. Star WM, Aalders MC, Sac A, Sterenborg HJ. Quantitative model calculation of the time-dependent protoporphyrin IX concentration in normal human epidermis after delivery of ALA by passive topical application or lontophoresis. *Photochem Photobiol*. 2002;75(4):424-432.

267. Smith S, Piacquadio D, Morhenn V, Atkin D, Fitzpatrick R. Short incubation PDT versus 5-FU in treating actinic keratoses. *J Drugs Dermatol*. 2003;2(6):629-635.

268. Zandbergen D, Slot DE, Cobb CM, Van der Weijden, F. A. The clinical effect of scaling and root planing and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole: A systematic review. *J Periodontol*. 2013;84(3):332-351.

269. Vilela SF, Junqueira JC, Barbosa JO, Majewski M, Munin E, Jorge AO. Photodynamic inactivation of staphylococcus aureus and escherichia coli biofilms by malachite green and phenothiazine dyes: An in vitro study. *Arch Oral Biol*. 2012;57(6):704-710.

270. Goulart Rde C, Bolean M, Paulino Tde P, Thedei G Jr, Souza SL, Tedesco AC, Ciancaglini P. Photodynamic therapy in planktonic and biofilm cultures of aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Photomed Laser Surg*. 2010;28 Suppl 1:53.

271. da Cruz Andrade P, da Cruz Andrade P, Euzebio Alves V, et al. Photodynamic therapy decrease immune-inflammatory mediators levels during periodontal maintenance. *Lasers Med Sci*. 2017;32(1):9-17.

272. Peters MC. Strategies for noninvasive demineralized tissue repair. *Dent Clin North Am*. 2010;54(3):507-525.

273. Rao A, Malhotra N. The role of remineralizing agents in dentistry: A review. *Compend Contin Educ Dent*. 2011;32(6):26-33; quiz 34, 36.

274. Mang TS, Tayal DP, Baier R. Photodynamic therapy as an alternative treatment for disinfection of bacteria in oral biofilms. *Lasers Surg Med*. 2012;44(7):588-596.

275. Baptista A, Kato IT, Prates RA, Suzuki LC, Raele MP, Freitas AZ, Ribeiro MS. Antimicrobial photodynamic therapy as a strategy to arrest enamel demineralization: A Short-Term study on incipient caries in a rat model. *Photochem Photobiol*. 2012;88(3):584-589.

276. Verrusio C, Iorio-Siciliano V, Blasi A, Leuci S, Adamo D, Nicolò M. The effect of orthodontic treatment on periodontal tissue inflammation: A systematic review. *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)*. 2018;49(1):69-77.

277. Zanatta FB, Ardenghi TM, Antoniazzi RP, Pinto TM, Rösing CK. Association between gingival bleeding and gingival enlargement and oral health-related quality of life (OHRQoL) of subjects under fixed orthodontic treatment: A cross-sectional study. *BMC Oral Health*. 2012;12:53-53.

278. Liu H, Sun J, Dong Y, Lu H, Zhou H, Hansen BF, Song X. Periodontal health and relative quantity of subgingival porphyromonas gingivalis during orthodontic treatment. *Angle Orthod*. 2011;81(4):609-615.

279. Alshehri FA. The use of mouthwash containing essential oils (LISTERINE®) to improve oral health: A systematic review. *Saudi Dent J*. 2018;30(1):2-6.

280. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc*. 2006;137(12):1649-1657.

281. Rode Sde M, Gimenez X, Montoya VC, Gómez M, Blanc SL, Medina M, Salinas E, Pedroza J, Zaldivar-Chiapa RM, Pannuti CM, Cortelli JR, Oppermann RV. Daily biofilm control and oral health: An epidemiological challenge consensus – brazilian advisory panel in oral health. *Braz Oral Res* 2012;22:7-13.

282. Van Leeuwen MP, Slot DE, Van der Weijden, G. A. Essential oils compared to chlorhexidine with respect to plaque and parameters of gingival inflammation: A systematic review. *J Periodontol*. 2011;82(2):174-194.

283. Stoeken JE, Paraskevas S, van der Weijden, G. A. The long-term effect of a mouthrinse containing essential oils on dental plaque and gingivitis: A systematic review. *J Periodontol*. 2007;78(7):1218-1228.

284. Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden, G. A. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: A systematic review. *Int J Dent Hyg*. 2008;6(4):290-303.

285. Haas AN, Pannuti CM, Andrade AK, Escobar EC, Almeida ER, Costa FO, Cortelli JR, Cortelli SC, Rode SD, Pedrazzi V, Oppermann RV. Mouthwashes for the control of

supragingival biofilm and gingivitis in orthodontic patients: Evidence-based recommendations for clinicians. *Braz Oral Res*. 2014;28(spe):1-8.

286. Alessandri Bonetti G, Incerti Parenti S, Ippolito DR, Gatto MR, Luigi C. Effects of ultrasonic instrumentation with different scaler-tip angulations on the shear bond strength and bond failure mode of metallic orthodontic brackets. *Korean J Orthod*. 2014;44(1):44-49.

287. Al-Jewair TS, Suri S, Tompson BD. Predictors of adolescent compliance with oral hygiene instructions during two-arch multibracket fixed orthodontic treatment. *Angle Orthod*. 2011;81(3):525-531.

288. Øgaard B, Alm AA, Larsson E, Adolfsson U. A prospective, randomized clinical study on the effects of an amine fluoride/stannous fluoride toothpaste/mouthrinse on plaque, gingivitis and initial caries lesion development in orthodontic patients. *Eur J Orthod*. 2006;28(1):8-12.

289. Rosa EP, Murakami-Malaquias-Silva F, Schalch TO, et al. Efficacy of photodynamic therapy and periodontal treatment in patients with gingivitis and fixed orthodontic appliances: Protocol of randomized, controlled, double-blind study. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(14):e19429.

290. Alessandri Bonetti G, Incerti Parenti S, Ippolito DR, Gatto MR, Luigi C. Effects of ultrasonic instrumentation with different scaler-tip angulations on the shear bond strength and bond failure mode of metallic orthodontic brackets. *Korean J Orthod*. 2014;44(1):44-49.

291. Pachevska AV, Filimonov YV, Filimonov VY, Dudik OP, Popova OI, Drachuk NV, Kasianenko DM, Biloshitska AV, Istoshyn VM. Clinical and laboratory assessment the levels of oral hygiene, total protein, hydrogen sulfide and nitrogen metabolites in oral fluid in the development of inflammatory complications during orthodontic treatment of children. *Wiad Lek*. 2019;72(5 cz 1):744-747.

292. Panhóca VH, Esteban Florez FL, Corrêa TQ, Paolillo FR, de Souza CW, Bagnato VS. Oral decontamination of orthodontic patients using photodynamic therapy mediated by blue-light irradiation and curcumin associated with sodium dodecyl sulfate. *Photomed Laser Surg*. 2016;34(9):411-417.

293. Jurela A, Repic D, Pejda S, Juric H, Vidakovic R, Matic I, Bosnjak A. The effect of two different bracket types on the salivary levels of S mutans and S sobrinus in the early phase of orthodontic treatment. *Angle Orthod*. 2013;83(1):140-145.

294. Pandis N, Papaioannou W, Kontou E, Nakou M, Makou M, Eliades T. Salivary streptococcus mutans levels in patients with conventional and self-ligating brackets. *Eur J Orthod*. 2010;32(1):94-99.

295. Jurišić S, Verzak Ž, Jurišić G, Jurić H. Assessment of efficacy of two chlorhexidine mouthrinses on oral hygiene and gingival health in adolescents wearing two types of orthodontic brackets. *Int J Dent Hyg*. 2018;16(2):e52-e57.

296. Lombardo L, Ortan Y, Gorgun Ö, Panza C, Scuzzo G, Siciliani G. Changes in the oral environment after placement of lingual and labial orthodontic appliances. *Prog Orthod*. 2013;14(1):1-8.

297. Rajesh S, Koshi E, Philip K, Mohan A. Antimicrobial photodynamic therapy: An overview. *J Indian Soc Periodontol* 2011;15(4):323-327.

298. Prażmo EJ, Kwaśny M, Łapiński M, Mielczarek A. Photodynamic therapy as a promising method used in the treatment of oral diseases. *Adv Clin Exp Med*. 2016;25(4):799-807.

299. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Marzo G, Monaco A. Photodynamic therapy in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci*. 2013;28(2):669-682.

300. Lui J, Corbet EF, Jin L. Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2011;46(1):89-96.

301. Borekci T, Meseli SE, Noyan U, Kuru BE, Kuru L. Efficacy of adjunctive photodynamic therapy in the treatment of generalized aggressive periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *Lasers Surg Med*. 2019;51(2):167-175.

302. Atieh MA. Photodynamic therapy as an adjunctive treatment for chronic periodontitis: A meta-analysis. *Lasers Med Sci*. 2010;25(4):605-613.

303. Paschoal M, Paschoal M, Moura C, Jeremias F, Souza JF, Bagnato VS, Giusti JS, Santos-Pinto L. Longitudinal effect of curcumin-photodynamic antimicrobial chemotherapy in adolescents during fixed orthodontic treatment: A single-blind randomized clinical trial study. *Lasers Med Sci*. 2015;30(8):2059-2065.

304. Kamran MA. Clinical, microbiological and immunological outcomes with photodynamic therapy as an adjunct to full-mouth scaling in patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020;29:101585.

305. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2008;35(10):877-884.

306. Polansky R, Haas M, Heschl A, Wimmer G. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009;36(7):575-580.

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

308. Lulic M, Leiggener Görög I, Salvi GE, Ramseier CA, Mattheos N, Lang NP. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: A proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2009;36(8):661-666.

309. Moreira AL, Novaes AB,Jr, Grisi MF, Taba M Jr, Souza SL, Palioto DB, de Oliveira PG, Casati MZ, Casarin RC, Messora MR. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: A split-mouth randomized controlled trial. *J Periodontol*. 2015;86(3):376-386.

310. Soares LGP, Crugeira PJL, Nunes IPF, Santos AS, Cangussú MCT, de Almeida PF, Pinheiro ALB, Habib FAL. Oral microbiological control by photodynamic action in orthodontic patients. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;28:221-225.

311. Mellish KJ, Cox RD, Vernon DI, Griffiths J, Brown SB. In vitro photodynamic activity of a series of methylene blue analogues. *Photochem Photobiol*. 2002;75(4):392-397.

312. Walker I, Gorman SA, Cox RD, Vernon DI, Griffiths J, Brown SB. A comparative analysis of phenothiazinium salts for the photosensitisation of murine fibrosarcoma (RIF-1) cells in vitro. *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3(7):653-659.

313. Rück A, Köllner T, Dietrich A, Strauss W, Schneckenburger H. Fluorescence formation during photodynamic therapy in the nucleus of cells incubated with cationic and anionic water-soluble photosensitizers. *J Photochem Photobiol B*. 1992;12(4):403-412.

314. Choi SS, Lee HK, Chae HS. In vitro photodynamic antimicrobial activity of methylene blue and endoscopic white light against helicobacter pylori 26695. *J Photochem Photobiol B*. 2010;101(3):206-209.

315. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: Part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2004;1(4):279-293.

316. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Wang CY, Koshy G, Romanos G, Ishikawa I, Izumi Y. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontol 2000*. 2009;51:109-140.

317. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: Biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol*. 2000;54:413-437.

318. Signat B, Roques C, Poulet P, Duffaut D. Fusobacterium nucleatum in periodontal health and disease. *Curr Issues Mol Biol*. 2011;13(2):25-36.

319. Slots J, Ting M. Actinobacillus actinomycetemcomitans and porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: Occurrence and treatment. *Periodontol 2000*. 1999;20:82-121.

320. Pan S, Liu Y, Si Y, Zhang Q, Wang L, Liu J, Wang C, Xiao S. Prevalence of fimA genotypes of porphyromonas gingivalis in adolescent orthodontic patients. *PLoS One*. 2017;12(11):e0188420.

321. de Oliveira RR, Novaes AB,Jr, Garlet GP, de Souza RF, Taba M Jr, Sato S, de Souza SL, Palioto DB, Grisi MF, Feres M. The effect of a single episode of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of experimental periodontitis. microbiological profile and cytokine pattern in the dog mandible. *Lasers Med Sci*. 2011;26(3):359-367.

322. Séguier S, Souza SL, Sverzut AC, Simioni AR, Primo FL, Bodineau A, Corrêa VM, Coulomb B, Tedesco AC. Impact of photodynamic therapy on inflammatory cells during human chronic periodontitis. *J Photochem Photobiol B*. 2010;101(3):348-354.

323. Kömerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol*. 2000;72(5):676-680.

324. Vyas N, Pecheva E, Dehghani H, Sammons RL, Wang QX, Leppinen DM, Walmsley AD. High speed imaging of cavitation around dental ultrasonic scaler tips. *PLoS One*. 2016;11(3):e0149804.

325. Trenter SC, Walmsley AD. Ultrasonic dental scaler: Associated hazards. *J Clin Periodontol*. 2003;30(2):95-101.

326. Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the oral microbiota in health: Mechanisms that prevent dysbiosis. *J Dent Res*. 2018;97(4):371-380.

327. Zhou J, Yao Y, Jiao K, Zhang J, Zheng X, Wu F, Hu X, Li J, Yu Z, Zhang G, Jiang N, Li Z. Relationship between gingival crevicular fluid microbiota and cytokine profile in periodontal host homeostasis. *Front Microbiol*. 2017;8:2144.

328. Teymouri F, Farhad SZ, Golestaneh H. The effect of photodynamic therapy and diode laser as adjunctive periodontal therapy on the inflammatory mediators levels in gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. *J Dent (Shiraz)*. 2016;17(3):226-232.

329. Liu CM, Hou LT, Wong MY, Rossomando EF. Relationships between clinical parameters, interleukin 1B and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. *Cytokine*. 1996;8(2):161-167.

330. Saglam M, Kantarci A, Dundar N, Hakki SS. Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2014;29(1):37-46.

331. Boronat-Catalá M, Catalá-Pizarro M, Bagán Sebastián JV. Salivary and crevicular fluid interleukins in gingivitis. *J Clin Exp Dent*. 2014;6(2):175.

332. Sağlam M, Köseoğlu S, Taşdemir I, Erbak Yılmaz H, Savran L, Sütçü R. Combined application of er:YAG and nd:YAG lasers in treatment of chronic periodontitis. A split-mouth, single-blind, randomized controlled trial. *J Periodontal Res*. 2017;52(5):853-862.

333. Johannsen A, Bjurshammar N, Gustafsson A. The influence of academic stress on gingival inflammation. *Int J Dent Hyg*. 2010;8(1):22-27.

334. Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol*. 2001;72(5):590-597.

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

336. Lui J, Corbet EF, Jin L. Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2011;46(1):89-96.

337. Kirschneck C, Christl JJ, Reicheneder C, Proff P. Efficacy of fluoride varnish for preventing white spot lesions and gingivitis during orthodontic treatment with fixed appliances-a prospective randomized controlled trial. *Clin Oral Investig*. 2016;20(9):2371-2378.

338. Esteban Florez FL, Mendonça de Oliveira, M. R., de Oliveira Júnior, O. B., Hiers RD, Khajotia SS, Pretel H. Bioluminescence analysis of antibacterial photodynamic therapy using methylene blue mediated by low-intensity level laser against cariogenic biofilms. *Photomed Laser Surg*. 2018;36(5):258-265.

339. Santezi C, Reina BD, Dovigo LN. Curcumin-mediated photodynamic therapy for the treatment of oral infections—A review. *Photodiagnosis Photodync Ther*. 2018;21:409-415.

340. Araújo PV, Correia-Silva Jde F, Gomez RS, Massara Mde L, Cortes ME, Poletto LT. Antimicrobial effect of photodynamic therapy in carious lesions in vivo, using culture and real-time PCR methods. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015;12(3):401-407.

341. Fekrazad R, Seraj B, Chiniforush N, Rokouei M, Mousavi N, Ghadimi S. Effect of antimicrobial photodynamic therapy on the counts of salivary streptococcus mutans in children with severe early childhood caries. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;18:319-322.

342. Demling A, Demling C, Schwestka-Polly R, Stiesch M, Heuer W. Influence of lingual orthodontic therapy on microbial parameters and periodontal status in adults. *The European Journal of Orthodontics*. 2009;31(6):638-642.

343. Demling A, Demling C, Schwestka-Polly R, Stiesch M, Heuer W. Short-term influence of lingual orthodontic therapy on microbial parameters and periodontal status. A preliminary study. *Angle Orthod*. 2010;80(3):480-484.

344. Ren C, McGrath C, Gu M, et al. Low-level laser-aided orthodontic treatment of periodontally compromised patients: A randomised controlled trial. *Lasers Med Sci*. 2020;35(3):729-739.

345. Quaranta A, Marchisio O, D'isidoro O, Genovesi AM, Covani U. Single-blind randomized clinical trial on the efficacy of an interdental cleaning device in orthodontic patients. *Minerva Stomatol*. 2018;67(4):141-147.

346. Glans R, Larsson E, Øgaard B. Longitudinal changes in gingival condition in crowded and noncrowded dentitions subjected to fixed orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003;124(6):679-682.

347. Gray D, McIntyre G. Does oral health promotion influence the oral hygiene and gingival health of patients undergoing fixed appliance orthodontic treatment? A systematic literature review. *J Orthod*. 2008;35(4):262-269.

348. Sanz M, Teughels W, Group A of European Workshop on Periodontology. Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus report of the sixth european workshop on periodontology. *J Clin Periodontol*. 2008;35(8 Suppl):3-7.

349. Özberk SS, Gündoğar H, Özkaya M, Taner İ, Erciyas K. The effect of photobiomodulation therapy on nonsurgical periodontal treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled, single-blind, split-mouth clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2020;35(2):497-504.

350. Pejcic A, Zivkovic V. Histological examination of gingiva treated with low-level laser in periodontal therapy. *J Laser Appl*. 2007;7.

351. Stein S, Schauseil M, Hellak A, Korbmacher-Steiner H, Braun A. Influence of photobiomodulation therapy on gingivitis induced by multi-bracket appliances: A split-mouth randomized controlled trial. *Photomed Laser Surg*. 2018;36(8):399-405.

352. Qadri T, Bohdanecka P, Tunér J, Miranda L, Altamash M, Gustafsson A. The importance of coherence length in laser phototherapy of gingival inflammation: A pilot study. *Lasers Med Sci*. 2007;22(4):245-251.

353. Aykol G, Baser U, Maden I, Kazak Z, Onan U, Tanrikulu-Kucuk S, Ademoglu E, Issever H, Yalcin F. The effect of Low-Level laser therapy as an adjunct to Non-Surgical periodontal treatment. *J Periodontol*. 2011;82(3):481-488.

354. Slot DE, Jorritsma KH, Cobb CM, Van der Weijden, F. A. The effect of the thermal diode laser (wavelength 808-980 nm) in non-surgical periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2014;41(7):681-692.

355. Lai SM, Zee KY, Lai MK, Corbet EF. Clinical and radiographic investigation of the adjunctive effects of a low-power he-ne laser in the treatment of moderate to advanced periodontal disease: A pilot study. *Photomed Laser Surg*. 2009;27(2):287-293.

356. Dukić W, Bago I, Aurer A, Roguljić M. Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: A randomized clinical study. *J Periodontol*. 2013;84(8):1111-1117.

357. Makhlouf M, Dahaba MM, Tunér J, Eissa SA, Harhash TA. Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *Photomed Laser Surg*. 2012;30(3):160-166.

358. Angiero F, Ugolini A, Cattoni F, Bova F, Blasi S, Gallo F, Cossellu G, Gherlone E. Evaluation of bradykinin, VEGF, and EGF biomarkers in gingival crevicular fluid and

comparison of PhotoBioModulation with conventional techniques in periodontitis: A split-mouth randomized clinical trial. *Lasers in Medical Science*. 2019.

359. Maurer M, Bader M, Bas M, Bossi F, Cicardi M, Cugno M, Howarth P, Kaplan A, Kojda G, Leeb-Lundberg F, Lötvall J, Magerl M. New topics in bradykinin research. *Allergy*. 2011;66(11):1397-1406.

360. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2004;56(4):549-580.

361. Matarese G, Ramaglia L, Cicciù M, Cordasco G, Isola G. The effects of diode laser therapy as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of aggressive periodontitis: A 1-year randomized controlled clinical trial. *Photomed Laser Surg*. 2017;35(12):702-709.

362. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:55-76.

363. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:32-42.

364. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: Protective and destructive roles. *Periodontol 2000*. 2010;52(1):163-206.

365. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: A systematic literature review. *Angle Orthod*. 2003;73(1):86-92.

366. Toker H, Poyraz O, Eren K. Effect of periodontal treatment on IL-1beta, IL-1ra, and IL-10 levels in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2008;35(6):507-513.

367. Singh R, Jayaprakash P, Yadav A, Dawar M, Grewal H, Mishra A. Evaluation of levels of interleukin-1b, intensity of pain and tooth movement during canine retraction using different magnitudes of continuous orthodontic force. *J Family Med Prim Care*. 2019;8(7):2373-2377.

368. Karacay S, Saygun I, Bengi AO, Serdar M. Tumor necrosis factor-alpha levels during two different canine distalization techniques. *Angle Orthod*. 2007;77(1):142-147.

369. Ozaki S, Kaneko S, Podyma-Inoue KA, Yanagishita M, Soma K. Modulation of extracellular matrix synthesis and alkaline phosphatase activity of periodontal ligament cells by mechanical stress. *J Periodontal Res*. 2005;40(2):110-117.

370. Domínguez A, Gómez C, Palma JC. Effects of low-level laser therapy on orthodontics: Rate of tooth movement, pain, and release of RANKL and OPG in GCF. *Lasers Med Sci*. 2015;30(2):915-923.

371. Lo Giudice A, Nucera R, Perillo L, Paiusco A, Caccianiga G. Is low-level laser therapy an effective method to alleviate pain induced by active orthodontic alignment archwire? A randomized clinical trial. *J Evid Based Dent Pract*. 2019;19(1):71-78.

372. Nucera R, Lo Giudice A, Bellocchio AM, Spinuzza P, Caprioglio A, Perillo L, Matarese G, Cordasco G. Bone and cortical bone thickness of mandibular buccal shelf for mini-screw insertion in adults. *Angle Orthod*. 2017;87(5):745-751.

373. Boyd R. Increasing the predictability of quality results with invisalign. proceedings of the illinois society of orthodontists. *Oak Brook*. 2015.

374. Miethke RR, Brauner K. A comparison of the periodontal health of patients during treatment with the invisalign system and with fixed lingual appliances. *J Orofac Orthop*. 2007;68(3):223-231.

375. Kim SJ, Park YG, Kang SG. Effects of corticision on paradental remodeling in orthodontic tooth movement. *Angle Orthod*. 2009;79(2):284-291.

376. Long H, Pyakurel U, Wang Y, Liao L, Zhou Y, Lai W. Interventions for accelerating orthodontic tooth movement: A systematic review. *Angle Orthod*. 2013;83(1):164-171.

377. Shaughnessy T, Kantarci A, Kau CH, Skrenes D, Skrenes S, Ma D. Intraoral photobiomodulation-induced orthodontic tooth alignment: A preliminary study. *BMC Oral Health*. 2016;16:3-7.

378. Rossini G, Parrini S, Castroflorio T, Deregibus A, Debernardi CL. Efficacy of clear aligners in controlling orthodontic tooth movement: A systematic review. *Angle Orthod*. 2015;85(5):881-889.

379. Ojima K, Dan C, Kumagai Y, Schupp W. Invisalign treatment accelerated by photobiomodulation. *J clin orthod: JCO*. 2016;50(5):309.

380. Xun C, Zeng X, Wang X. Microscrew anchorage in skeletal anterior open-bite treatment. *Angle orthod*. 2007;77(1):47-56.

381. Kato S, Kato M. Intrusion of molars with implants as anchorage: A report of two cases. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2006;8(2):100-106.

382. Tasanapanont J, Wattanachai T, Apisariyakul J, Pothacharoen P, Ongchai S, Kongtawelert P, Midtbø M, Jotikasthira D. Biochemical and clinical assessments of segmental maxillary posterior tooth intrusion. *Int J Dent*. 2017;2017:2689642.

383. Li W, Chen F, Zhang F, Ding W, Ye Q, Shi J, Fu B. Volumetric measurement of root resorption following molar mini-screw implant intrusion using cone beam computed tomography. *PloS one*. 2013;8(4):e60962.

384. Manni A, Cozzani M, Tamborrino F, De Rinaldis S, Menini A. Factors influencing the stability of miniscrews. A retrospective study on 300 miniscrews. *Eur J Orthod*. 2011;33(4):388-395.

385. Papageorgiou SN, Zogakis IP, Papadopoulos MA. Failure rates and associated risk factors of orthodontic miniscrew implants: A meta-analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012;142(5):577-595.e7.

386. Schätzle M, Männchen R, Zwahlen M, Lang NP. Survival and failure rates of orthodontic temporary anchorage devices: A systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20(12):1351-1359.

387. Tsui WK, Chua HD, Cheung LK. Bone anchor systems for orthodontic application: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012;41(11):1427-1438.

388. Dalessandri D, Salgarello S, Dalessandri M, Lazzaroni E, Piancino M, Paganelli C, Maiorana C, Santoro F. Determinants for success rates of temporary anchorage devices in orthodontics: A meta-analysis (n > 50). *Eur J Orthod*. 2014;36(3):303-313.

389. Mohammed H, Wafaie K, Rizk MZ, Almuzian M, Sosly R, Bearn DR. Role of anatomical sites and correlated risk factors on the survival of orthodontic miniscrew implants: A systematic review and meta-analysis. *Prog Orthod*. 2018;19(1):36-1.

390. Alharbi F, Almuzian M, Bearn D. Miniscrews failure rate in orthodontics: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Orthod*. 2018;40(5):519-530.

391. Khan BI, Singaraju GS, Mandava P, Reddy GV, Nettam V, Bhavikati VN. Comparison of anchorage pattern under two types of orthodontic mini- implant loading during retraction in type A anchorage cases. *J Clin Diagn Res: JCDR*. 2016;10(10):ZC98-ZC102.

392. Deguchi T, Yabuuchi T, Hasegawa M, Garetto LP, Roberts WE, Takano-Yamamoto T. Histomorphometric evaluation of cortical bone thickness surrounding miniscrew for orthodontic anchorage. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011;13(3):197-205.

393. Serra G, Morais LS, Elias CN, Meyers MA, Andrade L, Müller CA, Müller M. Sequential bone healing of immediately loaded mini-implants: Histomorphometric and fluorescence analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010;137(1):80-90.

394. Migliorati M, Drago S, Gallo F, Amorfini L, Dalessandri D, Calzolari C, Benedicenti S, Silvestrini-Biavati A. Immediate versus delayed loading: Comparison of primary stability loss after miniscrew placement in orthodontic patients-a single-centre blinded randomized clinical trial. *Eur J Orthod*. 2016;38(6):652-659.

395. Chen Y, Kyung HM, Zhao WT, Yu WJ. Critical factors for the success of orthodontic mini-implants: A systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;135(3):284-291.

396. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*. 1981;10(6):387-416.

397. Schnitman PA, Wöhrle PS, Rubenstein JE, DaSilva JD, Wang NH. Ten-year results for brånemark implants immediately loaded with fixed prostheses at implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(4):495-503.

398. Sagara M, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. The effects of early occlusal loading on one-stage titanium alloy implants in beagle dogs: A pilot study. *J Prosthet Dent*. 1993;69(3):281-288.

399. Akin-Nergiz N, Nergiz I, Schulz A, Arpak N, Niedermeier W. Reactions of peri-implant tissues to continuous loading of osseointegrated implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1998;114(3):292-298.

400. Wehrbein H, Diedrich P. Endosseous titanium implants during and after orthodontic load--an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1993;4(2):76-82.

401. Melsen B, Costa A. Immediate loading of implants used for orthodontic anchorage. *Clin Orthod Res*. 2000;3(1):23-28.

402. Luzi C, Verna C, Melsen B. Immediate loading of orthodontic mini-implants: A histomorphometric evaluation of tissue reaction. *Eur J Orthod*. 2009;31(1):21-29.

403. Chen Y, Lee JW, Cho WH, Kyung HM. Potential of self-drilling orthodontic microimplants under immediate loading. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010;137(4):496-502.

404. Chen Y, Kang ST, Bae SM, Kyung HM. Clinical and histologic analysis of the stability of microimplants with immediate orthodontic loading in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;136(2):260-267.

405. Bayani S, Heravi F, Radvar M, Anbiaee N, Madani AS. Periodontal changes following molar intrusion with miniscrews. *Dental research journal*. 2015;12(4):379-385.

406. Newman MG, Carranza FA. *Carranza's clinical periodontology*. 10th. edition. ed. St Louis, Mo: Saunders/ Elsevier; 2006.

407. Khorsand A, Paknejad M, Yaghobee S, Ghahroudi AA, Bashizadefakhar H, Khatami M, Shirazi M. Periodontal parameters following orthodontic treatment in patients with aggressive periodontitis: A before-after clinical study. *Dental research journal*. 2013;10(6):744-51.

408. Isola G, Matarese M, Briguglio F, et al. Effectiveness of low-level laser therapy during tooth movement: A randomized clinical trial. *Materials*. 2019;12(13).

409. Yang H, Liu J, Yang K. Comparative study of 660 and 830 nm photobiomodulation in promoting orthodontic tooth movement. *Photob Photomed Laser Surg*. 2019;37(6):349-355.

410. Impellizzeri A, Horodynski M, Fusco R, Palaia G, Polimeni A, Romeo U, Barbato E, Galluccio G. Photobiomodulation therapy on orthodontic movement: Analysis of preliminary studies with a new protocol. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(10):3547.

411. Pirmoradian M, Safiaghdam H, Nokhbatolfoghahaei H, Ashnagar S, Fekrazad R. Effect of photobiomodulation on relapse in an experimental rapid maxillary expansion model in rat. *Photochem Photobiol*. 2020.

412. Shaughnessy T, Kantarci A, Kau CH, Skrenes D, Skrenes S, Ma D. Intraoral photobiomodulation-induced orthodontic tooth alignment: A preliminary study. *BMC Oral Health*. 2016;16:3-7.

413. Domínguez A, Gómez C, Palma JC. Effects of low-level laser therapy on orthodontics: Rate of tooth movement, pain, and release of RANKL and OPG in GCF. *Lasers in Medical Science*. 2015;30(2):915-923.

414. Abellán R, Gómez C, Oteo MD, Scuzzo G, Palma JC. Short- and medium-term effects of low-level laser therapy on periodontal status in lingual orthodontic patients. *Photomed Laser Surg*. 2016;34(7):284-290.

415. Fernandes MRU, Suzuki SS, Suzuki H, Martinez EF, Garcez AS. Photobiomodulation increases intrusion tooth movement and modulates IL-6, IL-8 and IL-1β expression during orthodontically bone remodeling. *Journal of Biophotonics*. 2019;12(10).

416. Nieto-Nieto N, Solano JE, Yañez-Vico R. External apical root resorption concurrent with orthodontic forces: The genetic influence. *Acta Odontol Scand*. 2017;75(4):280-287.

417. Yamashiro T, Takano-Yamamoto T. Influences of ovariectomy on experimental tooth movement in the rat. *J Dent Res*. 2001;80(9):1858-1861.

418. Mangano F, Gandolfi A, Luongo G, Logozzo S. Intraoral scanners in dentistry: A review of the current literature. *BMC Oral Health*. 2017;17(1):149-x.

419. Kuroda S, Sakai Y, Tamamura N, Deguchi T, Takano-Yamamoto T. Treatment of severe anterior open bite with skeletal anchorage in adults: Comparison with orthognathic surgery outcomes. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007;132(5):599-605.

420. Kuroda S, Sugawara Y, Tamamura N, Takano-Yamamoto T. Anterior open bite with temporomandibular disorder treated with titanium screw anchorage: Evaluation of morphological and functional improvement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007;131(4):550-560.

421. Erverdi N, Usumez S, Solak A, Koldas T. Noncompliance open-bite treatment with zygomatic anchorage. *Angle Orthod*. 2007;77(6):986-90.

422. Apajalahti S, Peltola JS. Apical root resorption after orthodontic treatment -- a retrospective study. *Eur J Orthod*. 2007;29(4):408-12.

423. Sameshima G, Sinclair P. Predicting and preventing root resorption: Part II. treatment factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2001;119(5):511.

424. Chan E, Darendeliler M. Exploring the third dimension in root resorption. *Clin Orthod Research*. 2004;7(2):64-70.

425. Bernardes RA, de Paulo RS, Pereira LO, Duarte MA, Ordinola-Zapata R, de Azevedo JR. Comparative study of cone beam computed tomography and intraoral periapical radiographs in diagnosis of lingual-simulated external root resorptions. *Dent Traumatol.* 2012;28(4):268-72.

426. Castro IO, Alencar AH, Valladares-Neto J, Estrela C. Apical root resorption due to orthodontic treatment detected by cone beam computed tomography. *Angle Orthod*. 2013;83(2):196-203.

427. Dreiseidler T, Mischkowski RA, Neugebauer J, Ritter L, Zöller JE. Comparison of cone-beam imaging with orthopantomography and computerized tomography for assessment in presurgical implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24(2):216-25.

428. Durack C, Patel S, Mannocci F, Davies J, Wilson R. Diagnostic accuracy of small volume cone beam computed tomography and intraoral periapical radiography for the

detection of simulated external inflammatory root resorption. *Int Endod J*. 2011;44(2):136-147.

429. Dudic A, Giannopoulou C, Leuzinger M, Kiliaridis S. Detection of apical root resorption after orthodontic treatment by using panoramic radiography and cone-beam computed tomography of super-high resolution. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;135(4):434-437.

430. Han G, Huang S, Von den Hoff, J W, Zeng X, Kuijpers-Jagtman AM. Root resorption after orthodontic intrusion and extrusion: An intraindividual study. *Angle Orthod*. 2005;75(6):912-8.

431. Nimeri G, Kau CH, Corona R, Shelly J. The effect of photobiomodulation on root resorption during orthodontic treatment. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2014;6:1-8.

432. Hawkins DH, Abrahamse H. The role of laser fluence in cell viability, proliferation, and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium-neon laser irradiation. *Lasers Surg Med*. 2006;38(1):74-83.

433. Luger EJ, Rochkind S, Wollman Y, Kogan G, Dekel S. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med*. 1998;22(2):97-102.

434. Ozturk T, Gul Amuk N. Effects of photobiomodulation at different wavelengths on orthodontically induced root resorption in orthodontic retention period: A micro-CT and RT-PCR study. *Lasers Med Sci*. 2020;35(6):1419-1429.

435. Jahanbin A, Ramazanzadeh B, Ahrari F, Forouzanfar A, Beidokhti M. Effectiveness of er:YAG laser-aided fiberotomy and low-level laser therapy in alleviating relapse of rotated incisors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2014;146(5):565-572.