

EFFECTO DE LOS PROBIÓTICOS SOBRE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS EN EL FLUIDO CREVICULAR. UNA REVISION SISTEMÁTICA

Diana Milena Castellanos Rueda¹, Marcos Antonio López Zuniga¹, Sandra Elizabeth Aguilera Rojas² Camilo Novoa Bolivar²

1. Odontólogos, Residentes del Postgrado de Periodoncia, Bogotá. Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC.
2. Odontóloga, Especialista en Cirugía Oral, Magister en Ciencias Biomédicas, Directora de Investigación y Gestión del Conocimiento, UNICOC.
Odontólogo, Especialista en Periodoncia, Magister en epidemiología clínica, Docente Postgrado de Periodoncia, UNICOC

dmcastellanos@unicoc.edu.co
mantoniolopez@unicoc.edu.co

ABSTRACT

Background: Probiotics are microorganisms, mainly bacteria, which benefit the host's health. Many studies support the role of probiotics as a contributor to gastrointestinal health, and nowadays many authors are trying to prove its influence in oral health maintenance. **Objective:** Describe the effect of probiotics on proinflammatory cytokines in crevicular fluid. **Search methods:** A search strategy was designed for randomized clinical trials published in Pubmed, EMBASE, Epistemonikos, Scopus and Scielo. The search was carried out until July 15, 2019. **Selection criteria:** randomized controlled trials (RCTs), studies in patients with periodontal or peri-implant disease who have been treated with probiotics, studies that report results of proinflammatory cytokines in crevicular fluid. **Data collection and analysis:** The evaluation of the methodological quality of the trials and the data extraction were carried out independently and in duplicate. The authors were contacted for any missing information. The results were expressed using the PRISMA and COCHRANE guide. The statistical unit of the analysis was the crevicular fluid. **Results:** 5 RCTs of 14 potentially eligible trials were suitable for inclusion. Of the 5 included trials, 4 were conducted with a control group and a placebo group, in 1 the sample was divided into three groups, where one received more probiotic placebo, another only probiotic and another only placebo. All evaluated the effects of probiotics on proinflammatory cytokines in crevicular fluid. 4 of them were randomized, in one, it is not specified how the sample was distributed. Sample size ranged from 38 to 51 patients. As for the blinding of the studies, 3 were double blind, 1 single blind and the other was not specified. When comparing whether probiotic procedures had better results in clinical parameters and effect on proinflammatory cytokines, it was observed that, of the 5 studies submitted to the review, statistically significant improvement was observed in 3 of them in favor of the groups that were treated with the strain of probiotics. In the other 2 there was no significant difference in the results, between the test group and the control group. **Conclusions:** With the available evidence, it is still difficult to conclude whether probiotics offer any clinical benefit in the treatment of periodontal and peri-implant disease.

Keywords. Probiotics, gingival crevicular fluid, cytokines

RESUMEN

- **Antecedentes:** Los probióticos son microorganismos, principalmente bacterias, que benefician la salud del huésped. Muchos estudios apoyan el papel de los probióticos como contribuyentes a la salud gastrointestinal, y hoy en día muchos autores están tratando de demostrar su influencia en el mantenimiento de la salud oral. **Objetivo:** Identificar cuál es el efecto de los probióticos sobre las citoquinas proinflamatorias en el fluido crevicular. **Métodos de búsqueda:** Se diseñó una estrategia de búsqueda para ensayos clínicos aleatorizados publicados en Pubmed, EMBASE, Epistemonikos, Scopus y Scielo. La búsqueda se llevó a cabo hasta el 15 de Julio de 2019. **Criterios de selección:** ensayos clínicos controlados aleatorizados (ECA), estudios en pacientes con enfermedad periodontal o periimplantar que hayan sido tratados con probióticos, estudios que reporten resultados de citoquinas proinflamatorias en el fluido crevicular. **Recopilación y análisis de datos:** la evaluación de la calidad metodológica de los ensayos y la extracción de datos se realizaron de forma independiente y por duplicado. Los autores fueron contactados para cualquier información faltante. Los resultados se expresaron utilizando la guía PRISMA y COCHRANE. La unidad estadística del análisis fueron ensayos clínicos controlados que reportaron información sobre el fluido crevicular. **Resultados:** 5 ECA de 14 ensayos potencialmente elegibles fueron adecuados para su inclusión. De los 5 ensayos incluidos, en 4 se realizó el experimento con un grupo control y un grupo placebo, y en el quinto estudio se dividió la muestra en tres grupos, en donde uno recibió placebo más probiótico, otro solo probiótico y otro solo placebo. Todos evaluaron los efectos de los probióticos sobre las citoquinas proinflamatorias en el fluido crevicular. 4 de ellos fueron controlados aleatorizados, en uno, no se especifica cómo fue distribuida la muestra. El tamaño de muestra osciló entre 38 a 51 pacientes. En cuanto al cegamiento de los estudios, 3 fueron doble ciego, 1 simple ciego y en el otro no se especificó. Al comparar si los procedimientos con probióticos tuvieron mejor resultado en los parámetros clínicos y efecto en las citoquinas proinflamatorias, se observó que, de los 5 estudios sometidos a la revisión, en 3 de ellos hubo mejoría estadísticamente significativa a favor de los grupos que fueron tratados con la cepa de los probióticos. En los otros 2 no se encontró diferencia significativa de los resultados, entre el grupo prueba y el grupo control. **Conclusiones:** Con la evidencia disponible, que es muy limitada, todavía es difícil concluir si los probióticos ofrecen algún beneficio inmunológico en el tratamiento de la enfermedad periodontal y periimplantar.

Palabras claves. Probiotics, fluido crevicular gingival, citoquinas

INTRODUCCIÓN

La cavidad oral ha demostrado ser el hogar para más de 700 especies de

bacterias, entre ellas algunas beneficiosas y otras patógenas, que en salud conviven de forma simbiótica con el huésped, cuando se rompe este

equilibrio y hay un predominio de aquellas que son nocivas se pueden desarrollar enfermedades infecciosas, tal es el caso de la gingivitis y periodontitis (1). El mecanismo por el cual se da la destrucción de los tejidos periodontales es dual, por una parte, las bacterias se comportan como antígenos y producen endotoxinas, por el otro el sistema inmunológico produce una serie de agentes proinflamatorios con el fin de combatir las endotoxinas presentes, que finalmente también terminan generando la destrucción de los tejidos periodontales (2).

La terapia básica periodontal se orienta principalmente a reducir el número de microorganismos patógenos de manera mecánica. La eliminación de biopelícula realizada profesionalmente, incluido el raspaje y alisado radicular y la cirugía periodontal, podrían reducir el número y las proporciones de bacterias patógenas y restablecer el equilibrio ecológico de la microbiota oral. En general, los microorganismos asociados con bolsas de más de 4 mm de profundidad se reducen a niveles muy bajos o incluso indetectables después del tratamiento periodontal.

Los patógenos periodontales, como *P. gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *T. denticola*, también disminuyen notablemente en pacientes con periodontitis después del tratamiento mecánico (3). Sin embargo, la complejidad de la anatomía del diente y las limitaciones del área operativa presentan desafíos y dificultades para eliminar la biopelícula a fondo. Los medios mecánicos no son específicos, por lo que también se eliminan las bacterias beneficiosas.

Otra forma de tratar la enfermedad periodontal ha sido el uso de antibióticos como complementos de la terapia mecánica para tratar la periodontitis, particularmente en casos de fracaso del tratamiento convencional y enfermedades más agresivas (4). Cuando los tratamientos manuales se complementan con el uso de antibióticos locales y sistémicos, la cavidad oral sufre un cambio en la composición y la abundancia de diversas bacterias. Este procedimiento ha llevado al desarrollo de resistencia a los antimicrobianos en una amplia gama de microorganismos y a la consiguiente ineficacia de los antibióticos de uso común (5).

Esto ha conllevado a que en la terapéutica el uso de estos sea más cuidadoso y racional, es por ello que la tendencia actual está cada vez más orientada a que haya un cambio en la estrategia del manejo, la cual consiste en crear un ambiente microbiológico estable y compatible con salud, en el cual aquellos microorganismos beneficiosos puedan inhibir el crecimiento de patógenos y estimular la inmunidad del huésped. Esta estrategia consiste en la administración adecuada de bacterias denominadas probióticos. Los efectos benéficos de estos microorganismos ya han sido documentados en medicina para el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas de origen viral y bacteriano, sobre todo del aparato digestivo y el sistema respiratorio, de igual manera se reporta su relación con la buena salud oral (6).

En el sistema gastrointestinal los probióticos han mostrado su habilidad para alterar el balance de las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias secretadas por las células epiteliales (7). En las estructuras periodontales uno de los mecanismos más importantes de

protección es el fluido crevicular que emerge a través del epitelio de unión, este es un exudado inflamatorio, que puede dar información sobre la respuesta del huésped ante las invasiones bacterianas y el grado de destrucción del tejido periodontal (8), es decir a través de este se puede extrapolar el estado de respuesta inmunológica periodontal por medio de el volumen y composición. Reportar los efectos que tienen los probióticos en el fluido crevicular podría ser una forma de advertir si estos generan algún mecanismo que intervenga en el curso inmunológico de la patología periodontal y, de esta forma entender mejor como estos benefician los diferentes parámetros clínicos periodontales. El objetivo de esta investigación fue describir de esta revisión fue describir de acuerdo a la literatura cuál es el efecto de los probióticos en el fluido crevicular.

MATERIALES Y METODOS

PREGUNTA PICOT	
Participantes	Pacientes con gingivitis, periodontitis, mucositis y periimplantitis.
Intervención	Uso de probióticos en sus diversas presentaciones (alimentos, tabletas, goma de mascar, etc).
Comparación	Terapia convencional o placebo.
Outcome/Resultados	Los probióticos disminuyen el nivel de citoquinas proinflamatorias en el líquido crevicular/ probióticos aumentan el nivel de citoquinas proinflamatorias en el líquido crevicular/ Los probióticos no alteran las citoquinas proinflamatorias del líquido crevicular.

Antes de iniciar la revisión se estructuró un protocolo que fue registrado en PROSPERO, base de dato internacional para el registro de revisiones sistemáticas en salud y cuidado social.

Criterios para considerar y seleccionar los estudios

Se consideraron para la presente revisión todos los ensayos clínicos controlados aleatorizados (ECA) que evaluaron el efecto de los probióticos sobre las citoquinas proinflamatorias en el fluido crevicular, en pacientes que presentaran enfermedad periodontal o periimplantar.

Estrategia de búsqueda para la identificación de estudios.

Para la identificación de estudios incluidos o considerados para esta revisión, se desarrollaron estrategias de búsqueda detalladas para cada base de datos buscada. Las palabras claves seleccionadas fueron:

- “Probiotics”
- “Gingival crevicular fluid”
- “Cytokines”

Las combinaciones utilizadas para la búsqueda fueron “probiotics” AND “gingival crevicular fluid” y “probiotics” AND “cytokines” con sus respectivos términos MESH.

La búsqueda electrónica se llevó a cabo hasta el 15 de julio de 2019 siguiendo el diagrama de flujo sugerido por PRISMA (Fig 1). En la base de datos de PubMed, al usar términos MESH, se obtuvieron 4

resultados con la combinación de los criterios “probiotics” AND “gingival crevicular fluid”, y 5 resultados con la combinación de “probiotics” AND “cytokines”. En la base de Epistemonikos, usando las palabras clave, para las mismas combinaciones, los resultados obtenidos fueron 2 y 17 respectivamente. En la base de datos Scopus usando las palabras clave, se obtuvieron 10 y 22 respectivamente. En la base de datos Embase usando las palabras clave, para las mismas combinaciones, se obtuvieron 20 y 9 respectivamente. Finalmente, en la base de datos Scielo, al usar palabras clave plus, no se obtuvieron resultados para las combinaciones, para un total de 89 artículos.

Al eliminar duplicados para las búsquedas 1 y 2, 1 y 3, quedaron 79 artículos. Dos revisores evaluaron de forma independiente los títulos, resúmenes y textos completos (en los casos en que no había resumen) teniendo en cuenta los criterios de selección establecidos (Tabla 1).

Tabla 1. Criterios de selección

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
1. Ensayos clínicos controlados	1. Estudios in vitro, ex vivo o en animales
2. Estudios en pacientes con enfermedad periodontal o perimplantar que hayan sido tratados con probióticos.	2. Estudios que no reporten información sobre fluido crevicular y las citoquinas
3. Estudios que reporten resultados de citoquinas proinflamatorias en el líquido crevicular	3. Estudios con enfermedades sistémicas que modifiquen la respuesta inmunológica e inflamatoria.
	4. Estudios en pacientes gestantes o lactantes.

Después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión (tabla 1) quedaron 14 artículos, de los cuales se eliminaron 9 artículos por no cumplir los criterios de inclusión (Tabla 2). Finalmente, se seleccionaron 5 estudios. En caso de desacuerdo entre los revisores, las decisiones se tomaron por consenso.

Proceso de extracción de datos

El proceso de extracción de los datos se llevó a cabo basado en el análisis de PRISMA (9). De los estudios seleccionados, se extrajeron los siguientes criterios: Título del artículo, primer autor, nombre de la revista, año, factor de impacto, diseño del estudio, muestra, características de la muestra, definición de probióticos, presencia de citoquinas, efecto de los probióticos sobre las citoquinas proinflamatorias en el líquido crevicular, análisis estadístico; nivel de confianza; riesgo de sesgo; nivel de evidencia (Tabla 3). Estos datos

permitieron someter cada estudio al análisis de la calidad metodológica y clasificarlos según el nivel de evidencia (Tabla 4).

Análisis de la calidad metodológica y nivel de evidencia

Dos revisores evaluaron de manera independiente la calidad metodológica y el nivel de evidencia de los artículos seleccionados (Tabla 3). Se ha establecido una clasificación de los niveles de evidencia según las recomendaciones de SIGN 50 (Scottish Intercollegiate Guidelines Network 2012 (10). Dicha clasificación también se muestra en la Tabla 3 donde A representa el nivel de evidencia más alto y C el más bajo

Riesgo de sesgo en los estudios individuales

Dos revisores evaluaron de manera independiente el riesgo de sesgo en los estudios individuales, con base en 7 dominios, encontrados en la guía Cochrane. Dicha clasificación se muestra en la Tabla 4 donde el color verde representa riesgo bajo, el color

gris riesgo de sesgo poco claro y el rojo riesgo alto.

RESULTADOS

El rango de publicación de los 5 estudios fue desde el 2009 al 2017; de los 14 ensayos potencialmente elegibles, 9 fueron excluidos por una o más de las siguientes razones: 1) No informaron resultados con respecto a las citoquinas proinflamatorias del fluido crevicular, 2) No especificaba si los pacientes tenían o no enfermedad periodontal presente, 3) No especificaba si los pacientes se encontraban sistémicamente sanos, 4) Evaluaban el líquido crevicular pero no con el objetivo de analizar las citoquinas proinflamatorias (Tabla 6).

De los 5 ensayos incluidos, 4 se realizaron con un grupo control y un grupo placebo, en el quinto ensayo se dividió la muestra en tres grupos, en donde uno recibió placebo más probiótico, otro solo probiótico y otro solo placebo. Todos evaluaron los efectos de los probióticos sobre las citoquinas proinflamatorias en el líquido crevicular. 4 de ellos fueron controlados aleatorizados, en uno, no se especifica cómo fue distribuida la

muestra. El tamaño de muestra osciló entre 38 a 51 pacientes. En cuanto al cegamiento de los estudios, 3 fueron doble ciego, 1 simple ciego y en el otro no se especificó (Tabla 5).

Hallström H et al (11), evaluaron los efectos de los suplementos probióticos junto con el tratamiento convencional de la mucositis peri-implantaría, mediante bacterias probióticas (2 cepas de *L. reuteri*) aplicadas durante 3 meses en forma de aceite tópico (activa o placebo) en el surco gingival sub y supragingivalmente y pastillas (activa o placebo) dos veces al día (mañana y tarde), indicando que una de las dos se derritiera lentamente en la boca. Los productos activos contenían una mezcla de dos cepas de *Lactobacillus reuteri*. De 53 pacientes elegibles con mucositis peri-implantaria, 49 dieron su consentimiento informado, y se inscribieron en el estudio. 25 pacientes se asignaron en el grupo control, de los cuales 3 no continuaron, permaneciendo 22. Del grupo de prueba no desistió nadie del estudio quedando 24 pacientes. Los parámetros clínicos que se tuvieron en cuenta fueron la profundidad al

sondaje, índice de placa (PI), índice de sangrado (BOP) y presencia de pus. Se recogieron muestras de líquido crevicular (CGF) al inicio del estudio y en las semanas de seguimiento en el punto con mayor profundidad de sondaje, con un cono de papel durante 20 segundos. La concentración de citoquinas se determinó a través del ensayo de citoquinas Bio-Plex®. Se determinó una mejoría tanto en el grupo de prueba como en el grupo placebo, en los seguimientos en comparación con el valor inicial, pero no se mostraron diferencias significativas entre los grupos. Los parámetros clínicos evaluados durante el estudio disminuyeron significativamente para el grupo control, y el grupo placebo ($p < 0.05$). En cuanto la profundidad al sondaje el cambio en el sitio más profundo del implante vario de 0.7 a 1.2mm en ambos grupos. Del mismo modo el índice de placa y el sangrado se redujeron con más del 50% en ambos grupos durante la intervención. El volumen de GCF disminuyó igualmente para ambos grupos durante la intervención y el seguimiento ($p < 0.05$) en comparación con el valor inicial, reduciendo en el

grupo prueba de 0.31 pg/ml a 0.03 pg/ml y en el grupo control de 0.27 pg/ml a 0.07 pg/ml. De igual manera hubo una tendencia de niveles reducidos de citoquinas proinflamatorias, alrededor de un 40 a 50% en comparación con el valor inicial después de 4 semanas. Pero no hubo diferencia significativa entre los grupos ($p > 0.05$).

Szkaradkiewicz A et al (12), evaluaron la respuesta de citoquinas proinflamatorias en pacientes con periodontitis crónica, administrando una cepa probiótica de *Lactobacillus reuteri*, 2 veces al día después del cepillado dental, 2 semanas posterior a la terapia básica inicial. Este estudio se realizó en 38 pacientes, de los cuales 24 pertenecían al grupo al grupo prueba (Grupo 1) y 14 al grupo control (Grupo 2). La muestra del CGF se tomó 2 semanas posterior a la terapia y 2 semanas después de haber administrado las tabletas, en todas las bolsas periodontales usando jeringas Hamilton® 25 µL (aguja delgada de 25mm) en intervalos de 1 a 2min. La concentración de citoquinas se determinó a través de la prueba ELISA. Los parámetros clínicos

también fueron tomados en los mismos tiempos en los que se tomó la muestra del CGF. Para el grupo 1, en 18 pacientes se manifestó una disminución significativa que osciló entre 6,8% y el 25%, en los parámetros clínicos, siendo la diferencia más pronunciada en el índice de sangrado. Igualmente, se mostró una disminución en los niveles de citoquinas del doble en los niveles de TNF- α , e IL-17, y una disminución de triple en IL-1 β . En los 6 pacientes restantes los valores de ambos, no mostraron diferencias significativas. Para el grupo 2, en 3 de los 5 parámetros se dio una variación de la media, la cual aumentó y en 2 hubo disminución de la media aproximada de 0,05, pero ninguna fue estadísticamente significativa, similar a los resultados obtenidos con las citoquinas en el CGF. Entre el grupo de prueba y el grupo control se evidencio que la aplicación del tratamiento oral con tabletas que contienen cepa probiótica de *L. reuteri*, demuestran una reducción significativa de la respuesta a las citoquinas proinflamatorias y una mejora de los parámetros clínicos.

Twetman S, et al (13), investigaron el efecto de una goma de mascar con probióticos en la inflamación gingival y los niveles de mediadores inflamatorios seleccionados en el fluido crevicular. Este estudio se realizó en 42 pacientes asignados aleatoriamente en 3 grupos denominados, grupo A/P con 15 pacientes que recibieron una goma de mascar activa y una goma de mascar placebo, grupo A/A con 14 pacientes que recibieron 2 gomas de mascar activas, y grupo P/P con 13 pacientes que recibieron 2 gomas de mascar con placebo. Cuatro pacientes abandonaron (Del grupo A/P 2, del grupo A/A 1 y del grupo P/P 1) y fueron excluidos durante el periodo de estudio, ya que no pudieron asistir a sus visitas de control. Las gomas de mascar contenían dos cepas de *Lactobacillus reuteri* y los pacientes las consumieron masticadas durante 10 minutos, 2 veces al día, una en la mañana y la otra en la noche, al menos una hora después de la ingesta de alimentos, en el transcurso de 2 semanas. La recolección del CGF se realizó en 2 sitios vestibulares contralaterales de incisivos superiores (42%), caninos (34%) o premolares

(24%) usando tiras Periopaper®, insertadas en el surco durante 20 segundos. La concentración de citoquinas se determinó a través de tecnología Luminex® y Kits de inmunoensayo multiplex®. En cuanto a los resultados de los parámetros clínicos, hubo un poco más de sitios con BOP positivo (68%) en el grupo placebo al inicio del estudio, en comparación con los 2 grupos activos (54% y 58%), pero la diferencia no fue estadísticamente significativa. El número de sitios con BOP disminuyó durante el período experimental en todos los grupos, y la disminución fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en los grupos A/P y A/A, siendo esta mayor del 60%, después de 2 semanas de masticación. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de CGF al inicio del estudio. Las cantidades registradas tendieron a disminuir con el tiempo en todos los grupos y la diferencia en comparación con el valor inicial fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$), siendo esta diferencia aproximadamente del 45% en los dos grupos con gomas de mascar activas en el seguimiento de 2 semanas. Para los mediadores

inflamatorios los niveles de TNF- α e IL-8 se redujeron significativamente ($p < 0.05$), en comparación con la línea base en la línea A/A, después de 1 y 2 semanas, mientras que no se observaron alteraciones significativas en los grupos A/P y P/P. Se registró una tendencia decreciente similar para IL-1 β para el grupo A/A durante la masticación, pero la diferencia no logró alcanzar significancia estadística. Las concentraciones de IL-10 e IL-6 permanecieron principalmente sin cambios en todos los grupos durante el período de masticación de 2 semanas.

Keller M.K et al (14) investigaron los efectos clínicos y microbianos de las cepas *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus curvatus* en pacientes con gingivitis moderada. En total fueron 58 personas examinadas y 47 cumplieron los criterios de inclusión. Después de la inscripción, el examen inicial y el muestreo, los participantes fueron asignados aleatoriamente, 23 al grupo de control y 24 al grupo de prueba. Los participantes recibieron instrucciones de tomar 1 tableta por la mañana y otra en la noche, 30 minutos después de cepillarse los dientes. El período de intervención fue de 4

semanas con registros de seguimiento de 2,4 y 6 semanas. Todos los parámetros clínicos se tomaron en cada visita. El GCF se recogió en 1 sitio vestibular con gingivitis moderada en el incisivo superior, canino o premolar de cada participante, usando tiras Periopaper®, insertadas en el surco durante 20 segundos. La concentración de citoquinas se determinó a través de PCR y qPCR. Los resultados para los parámetros clínicos arrojaron, en cuanto al BOP, que este mejoró en ambos grupos, pero no hubo diferencia significativa entre los grupos en ningún momento. La disminución fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$), después de 4 y 6 semanas en el grupo de prueba en comparación con el valor inicial. El índice de placa (PI) general, se vio menos afectado, aunque hubo una tendencia a la disminución de la media en el grupo prueba de probióticos en comparación con el valor basal después de 2 y 4 semanas. Se evidencia que las citoquinas IL -1 β , IL-6, IL-8, IL-10 no presentaron ninguna alteración significativa en los dos grupos del estudio ($p > 0.05$).

Kuru B.E et al (15) al evaluar el efecto de un yogurt con *Bifidobacterium Animalis* vs un yogurt placebo, en pacientes con gingivitis. La muestra fue de 51 pacientes que cumplían los criterios de inclusión, 26 en el grupo prueba y 25 en el grupo control. Este estudio comprendió en primer lugar un período de 28 días de consumo de yogurt probiótico o placebo, seguido de un período de acumulación de placa de 5 días, el abstenerse de cualquier medida de higiene oral. Se recomendó utilizar los productos en la mañana, entre el desayuno y la hora del almuerzo, no comer, ni cepillarse los dientes durante al menos una hora después del consumo del yogurt. Las mediciones de los parámetros clínicos y del GCF se tomaron al inicio y al final del período sin cepillado. La recolección del GCF se realizó a partir de 8 dientes, empleando tiras de papel absorbente, insertadas en el surco durante 30 segundos. La concentración de citoquinas se determinó a través del método ELISA. Con respecto al índice de placa y al índice gingival, tanto en el grupo probiótico como en el grupo control, no se pudo observar diferencias intragrupalas entre el día 0 y el día 28,

sin embargo 5 días de no cepillarse condujeron a una placa e índice gingival, significativamente más altos ($p<0.001$), pero aun así obteniendo puntuaciones más bajas para el grupo de probióticos con respecto al control ($p<0.001$). En cuanto al BOP, al observar la comparación intragrupal entre el inicio del periodo sin cepillado día 28 y el final día 33, el aumento en los sitios de sangrado fue significativamente menor en el grupo de probióticos que en el grupo control (10.45% vs 21.23%). Para la profundidad al sondaje la única diferencia intragrupo estadísticamente significativa, se dio en el grupo control, donde la profundidad era mayor en día 33 que en día 0 ($p=0.005$), las demás comparaciones intergrupales no fueron estadísticamente significativas. Igualmente se observó menos aumento en el volumen de GCF y menor cantidad /concentración de IL-1 β , siendo mejores los resultados para el grupo tratado con probióticos.

DISCUSIÓN

Este trabajo se basó en reportar los efectos que tienen los probióticos sobre la inmunología del líquido crevicular, sobre todo en los cambios

que generan en la composición, únicamente los estudios incluidos en la revisión reportaron datos sobre la presencia de citoquinas en este, lo que indica una necesidad de realizar más investigaciones sobre este parámetro, es importante analizar esto, porque a pesar que las bacterias son el agente etiológico de la enfermedad periodontal (16), la patogenia y el curso natural de esta depende mucho de la respuesta inmunológica del huésped, y en la respuesta inmunológica están involucradas las citoquinas proinflamatorias (17), el análisis del aumento o disminución de estas en líquido crevicular con el uso de bacterias beneficiosas indica que utilizarlas puede ser una gran ayuda terapéutica en el tratamiento periodontal.

De los 5 estudios sometidos a la revisión, en 3 de ellos se observó mejoría en el nivel de IL-1 β y TNF- α en líquido crevicular estadísticamente significativa a favor de los grupos que fueron tratados con la cepa de probióticos, en estos se utilizaron tres tipos diferentes de administración (tabletas, goma de mascar y yogurt), en dos estudios con tabletas no hubo

diferencias en los niveles de interleuquinas, algo llamativo, porque se tendría que justificar porqué de tres estudios con el mismo vehículo, en uno sí resultó efectiva la reducción de citoquinas proinflamatorias, esto genera una duda sobre la influencia que puede tener la forma de administración en la efectividad del tratamiento con probióticos, además de la cepa de probiótico seleccionada, también indica la necesidad de realizar más estudios con otro tipo de vehículos para las cepas de bacterias beneficiosas.

El estudio de Kuru B. E. et al (15), que utilizó *Bifidobacterium animalis*, evidenció un resultado significativo a favor para todos los parámetros en el grupo de probióticos con puntuaciones más bajas de placa y gingivitis, menos sangrado al sondaje, menos aumento en el volumen de GCF y menor cantidad /concentración de IL-1 β , este reporte resulta importante, la literatura aborda ampliamente como esta citoquina interviene en la destrucción ósea periodontal a través de la activación del sistema RANK-RANKL, además de la potenciación de la inflamación por la interacción con

linfocitos b y otras de la inmunidad innata, el hecho que una bacteria disminuya los niveles de esta puede ser útil por lo menos para aminorar los efectos destructivos de la enfermedad y retardar su curso natural hacia la destrucción total de los tejidos periodontales (18).

En el estudio de Keller M.K (14) que utilizó *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus curvatus* no hubo diferencia significativa y las citoquinas IL -1 β , IL-6, IL-8, IL-10 presentaron ninguna alteración en los dos grupos del estudio, esto puede deberse a que uno de los requisitos importantes en la terapia de probióticos es saber cuál es la cepa necesaria para intervenir con el patógeno específico y esto lo reportó Teughels en su estudio de 2013 sobre recolonización microbiológica periodontal guiada(19).

Szkaradkiewicz A et al (12), en su estudio realizado en pacientes con periodontitis crónica, evidenció que los pacientes tratados con tabletas que contienen la cepa de *L.reuteri*, manifiestan una disminución del doble en TNF- α e IL-17 y una disminución del triple en la IL-1 β , todas importantes

en la progresión de la destrucción periodontal, y más importante aún se evidencia con estos resultados que el *L. reuteri* si representa una buena opción de probióticos para tratar la enfermedad periodontal y sus efectos clínicos reportados en los diferentes ensayos clínicos pudieran suponer la extrapolación de sus efectos a nivel biológico.

Los resultados obtenidos en el ensayo clínico aleatorizado de Peña M et al (20), sugieren que la terapia probiótica con *L. reuteri* puede no proporcionar ningún beneficio clínico y microbiológico adicional a los 3 meses después del tratamiento de la mucositis periimplantaria. Esta falta de efecto coadyuvante de los probióticos podría explicarse por la dificultad del desbridamiento mecánico para alterar la biopelícula en la superficie del implante debido a sus roscas (21) porque se ha informado un efecto limitado de los probióticos en las biopelículas intactas (22). Estas observaciones están de acuerdo con las presentadas en el estudio clínico de Hallström H (11), analizado en la revisión, en el que una población de mucositis periimplantaria después del

desbridamiento mecánico y las instrucciones de higiene oral recibieron una aplicación tópica de aceite y una ingesta diaria de una tableta que contenía probióticos (dos cepas de *L. reuteri*) o placebo dos veces al día durante 3 meses. A pesar de la mejoría lograda en los parámetros clínicos y los niveles de GFC de mediadores inflamatorios, que se mantuvieron a los 3 meses después de la administración del tratamiento, no se informaron diferencias significativas entre los grupos. Además, no se encontraron alteraciones importantes de la microflora subgingival con el tiempo. Como se puede ver, los resultados de los estudios publicados son significativamente heterogéneos, por lo que es difícil sacar conclusiones. Una de las observaciones realizadas durante el curso de esta revisión fue que, si bien algunos estudios realizaron un raspaje y pulido coronal al comienzo del estudio (día 0), otros no. Una observación similar se realizó en una revisión anterior que llevó a los autores a citar que el tratamiento previo tiende a reducir los niveles de microbiota autóctona oral y, por lo tanto, crea más sitios para la

colonización por bacterias probióticas (23). Es lógico suponer que esto también puede haber sido una de las razones de la variabilidad en los resultados.

La heterogeneidad puede haber sido la razón de los resultados mixtos. Esta se debió a una serie de factores, entre ellos la variabilidad en los tiempos del tratamiento entre los estudios (2 semanas a 3 meses), inconsistencias en la dosis y la cantidad de veces que se administró el probiótico por día, utilización de diferentes cepas de bacterias y lo anteriormente nombrado en cuanto al raspaje y alisado radicular previo.

CONCLUSIONES

Estas conclusiones se basan en pocos ensayos con tamaños de muestra pequeñas, seguimientos relativamente cortos y, a veces, se considera que tienen un riesgo de sesgo, por lo tanto, deben considerarse con precaución.

De los 5 estudios sometidos a la revisión, en 3 de ellos se observó mejoría estadísticamente significativa a favor de los grupos que fueron tratados con la cepa de los probióticos.

En los otros 2 no hubo diferencia significativa de los resultados, entre el grupo prueba y el grupo control.

La acción de los probióticos puede variar entre un diente y un implante, aunque en las dos exista presencia de citoquinas proinflamatorias similares en el líquido crevicular

Con la evidencia disponible, todavía es difícil concluir si los probióticos ofrecen algún beneficio en la inmunología en el tratamiento de la enfermedad periodontal y peri-implantar.

RECOMENDACIONES

Se requieren estudios clínicos bien diseñados con muestras de mayor tamaño y seguimientos a largo plazo.

Los estudios futuros también deberán adherirse a una metodología uniforme para evitar la heterogeneidad.

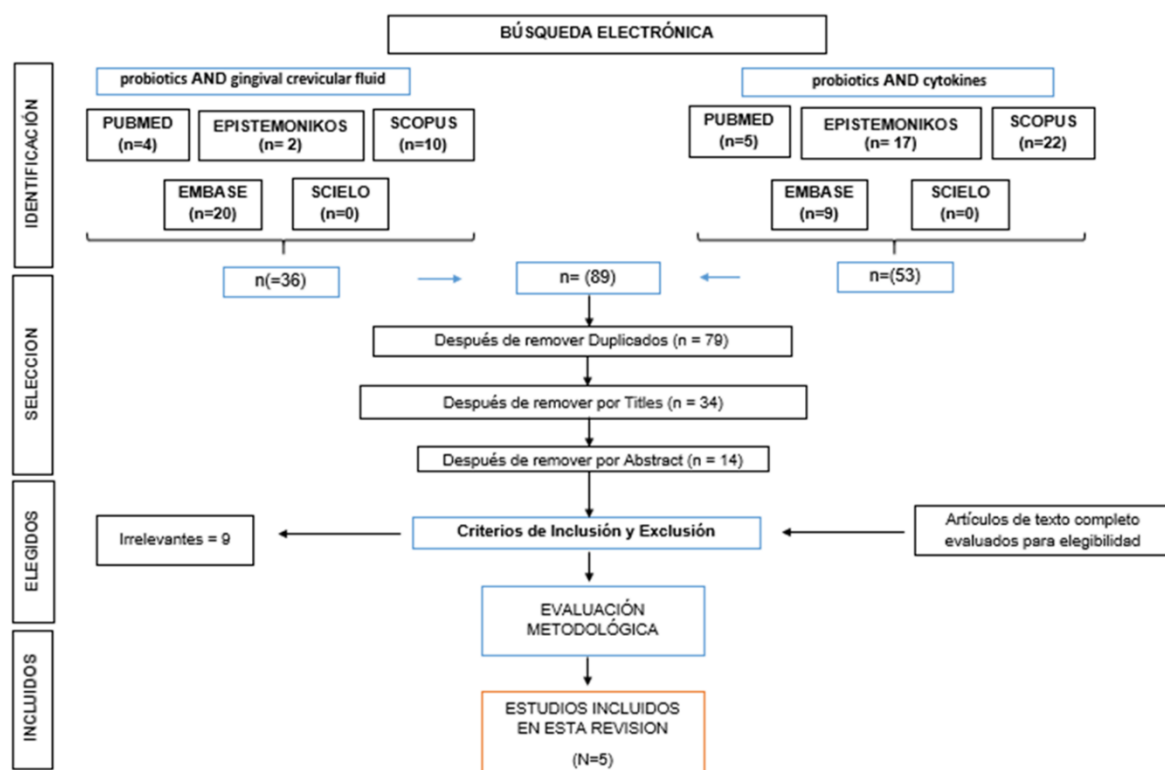
REFERENCIAS

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; (43): 5721-32.
2. Listgarten. M, A. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. *J Periodontol* 1976; (1): 1-18.
3. M. Sakamoto, Y. Huang, M. Ohnishi, M. Umeda, I. Ishikawa, Y. Benno, Changes in oral microbial profiles after periodontal treatment as determined by molecular analysis of 16S rRNA genes, *J. Med. Microbiol.* 2004; (63): 563–571
4. R.M.J. Rodrigues, C. Goncalves, R. Souto, E.J. Feres, M. Uzeda, A.P.V. Colombo, Antibiotic resistance profile of the subgingival microbiota following systemic or local tetracycline therapy, *J. Clin. Periodontol.* 2000; (6): 420–427
5. R. Poveda Roda, J.V. Bagan, J.M. Sanchis Bielsa, E. Carbonell Pastor, Antibiotic use in dental practice: a review, *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* 12 (3) (2007) E186–E192.
6. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; (66): 365-78.
7. Delcenserie V, Martel D, Lamoureux M, Amiot J, Boutin Y, Roy D. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Curr Issues Mol Biol.* 2008; 10(1-2):37-54.
8. Subrahmanyam, M. V., & Sangeetha, M. Gingival crevicular fluid a marker of the periodontal disease activity. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2003; 18(1), 5–7.
9. Urrútia Gerard, Bonfill X. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Med Clin.* 2010;135(11):507-511
10. Sig N. Sign 50. Diversity. 2008;(January)
11. Hallström H, Lindgren S, Wden C, Renvert S, Twetman S. Probiotic supplements and debridement of peri-implant mucositi:A randomized controlled trial.*Acta Odontol Scand.* 2016;74(1):60-6
12. Szkaradkiewicz A, Stopa J, Karpinski T.M. Effect of Oral Administration Involving a Probiotic

- Strain of *Lactobacillus reuteri* on Pro-Inflammatory Cytokine Response in Patients with Chronic Periodontitis. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2014; (6):495-500
13. Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksén-Blicks C: Short term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. Act Odontol Scand. 2009; (1): 19-24
 14. Keller MK, Brandsborg E, Holmstrøm K, Twetman S. Effect of tablets containing probiotic candidate strains on gingival inflammation and composition of the salivary microbiome: a randomised controlled trial. Benef Microbes. 2018; (3): 487-494.
 15. Kuru BE, Laleman I, Yalnizoglu T, Kuru L, Teughels W. The influence of a *Bifidobacterium animalis* probiotic on gingival health: Randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2017; (11): 1115-1123
 16. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. Swed Dent J. 2006; 30(2):55-60.
 17. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol. 1965; (36): 177-87.
 18. Hajishengallis G, Korostoff J. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. Periodontol 2000. 2017; (75): 116-151.
 19. Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: A randomized placebo-controlled study. J Clin Periodontol. 2013; (40): 1025-35
 20. Peña, M., Barallat, L., Vilarrasa, J., Vicario, M., Violant, D., & Nart, J. Evaluation of the effect of probiotics in the treatment of peri-implant mucositis: a triple-blind randomized clinical trial. Clinical Oral Investigations. 2018; (13): 84-102
 21. Steiger-Ronay V, Merlini A, Wiedemeier DB, Schmidlin PR, Attin T, Sahrman P. Location of inaccessible implant surface areas during debridement in simulated

- peri-implantitis therapy. BMC Oral Health. 2017; 17(1):137.
22. Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG. Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. J Oral Microbiol. 2010; (19):1–9
 23. Moher D, Schulz KF, Altman DG. The CONSORT statement: Revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. Lancet 2001; 357:1191-4.

FIGURA 1



TABLAS 3 Y 4

A	Revisiones Sistemáticas, Meta-Análisis y Ensayos clínicos con muy poco riesgo de sesgo
	Estudios con número de muestra de 100 pacientes o más
	Estudios que definan la característica de la muestra (Probióticos y placebo)
	Estudios que definan la relación entre los probióticos y las citoquinas proinflamatorias en el GCF
	Estudios que asocien la enfermedad periodontal/peri-implantar y el tratamiento con probióticos
	Estudios de revistas Q1
B	Estudios Longitudinales y Ensayos clínicos con poco riesgo de sesgo
	Estudios con número de muestra de 50 a 99 pacientes
	Estudios que definan la característica de la muestra (Probióticos y placebo)
	Estudios que definan probióticos y tengan presencia de citoquina proinflamatorias
	Estudios que asocien la enfermedad periodontal/peri-implantar y el tratamiento con probióticos
	Estudios de revistas Q2
C	Estudio Transversales
	Estudios con número de muestra inferior a 50 pacientes
	Estudios que definan probióticos y tengan presencia de citoquina proinflamatorias
	Estudios que no asocien la enfermedad periodontal/peri-implantar y el tratamiento con probióticos
	Estudios de revistas Q3 o Q4

RIESGO DE SESGO EN LOS ESTUDIOS INDIVIDUALES								
No Art	Título del Artículo	Generación de la secuencia aleatoria	Ocultamiento de la asignación	Cegamiento de los participantes y del personal	Cegamiento de los evaluadores del resultado	Datos del resultado incompletos	Notificación selectiva de los resultados	Otras fuentes de sesgo
1	Probiotic supplements and debridement of peri-implant mucositis: A randomized controlled trial	Controlado aleatorizado	Asignación centralizada	Doble ciego	Doble ciego	No se dispone de los datos completos para todos los resultados	No se dispone de todos los resultados de interés de la revisión	El estudio parece no estar afectado por otras fuentes de sesgo
2	Effect of Oral Administration involving a Probiotic strain of lactobacillus reuteri on pro-inflammatory cytokine response in patients with chronic periodontitis	No se especifica en el artículo	No se especifica en el artículo	No se especifica en el artículo	No se especifica en el artículo	Se dispone de los datos completos para todos los resultados	No se dispone de todos los resultados de interés de la revisión	Desequilibrio inicial entre los grupos
3	Short-term effect of chewing gums containing probiotic lactobacillus reuteri on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid	Controlado aleatorizado	Asignación centralizada	Doble ciego	Doble ciego	No se dispone de los datos completos para todos los resultados	No se dispone de todos los resultados de interés de la revisión	El estudio parece no estar afectado por otras fuentes de sesgo
4	Effect of tablets containing probiotic candidate strains on gingival inflammation and composition of the salivary microbiome: a randomised controlled trial	Controlado aleatorizado	Asignación centralizada	Doble ciego	Doble ciego	Se dispone de los datos completos para todos los resultados	No se dispone de todos los resultados de interés de la revisión	El estudio parece no estar afectado por otras fuentes de sesgo
5	The influence of a Bifidobacterium Animalis probiotic on gingival health: a randomized controlled clinical trial	Controlado aleatorizado	Asignación centralizada	Simple ciego	Simple ciego	Se dispone de los datos completos para todos los resultados	Se dispone del protocolo de estudio y todos los resultados de interés de la revisión están descritos de forma prevista	El estudio parece no estar afectado por otras fuentes de sesgo

TABLA 5

SABANA															
No Art	Título del Artículo	Primer Autor	Nombre de Revista	Año	Factor de impacto	Diseño del estudio	Muestra	Características de la muestra	Definición de probióticos	Presencia de Citoquinas	Efecto de los probióticos sobre las citoquinas proinflamatorias en el líquido crevicular	Análisis estadístico	Nivel de Confianza	Risk Bias	Nivel de evidencia
1	Probiotic supplements and debridement of peri-implant mucositis-A randomized controlled trial	Hallström H	Healthcare	2015	Q2	ECA	49 pacientes	22 agente y pastillas y 24 placebo	NP	SI	No se evidencia diferencia significativa entre los grupos, no se revelaron alteraciones importantes en la microflora subgingival y los niveles de mediadores inflamatorios en el GCF	SPSS (IBM versión 22.0; Chicago, IL)	p < 0.05	Bajo	B
2	Effect of Oral Administration involving a Probiotic strain of lactobacillus reuteri on pro-inflammatory cytokine response in patients with chronic periodontitis	Sakandkiewicz A	Beneficial Microbes	2014	Q2	ECA	38 pacientes	24 con tabletas probióticas y 14 placebo	NP	SI	Se evidencia que los pacientes tratados con con tabletas que contienen la cepa de L.Reuteri se manifiesta una disminución de los niveles de TNF- α e IL-17 y una gran disminución en la IL-1 β	Test de Kruskal-Wallis	p < 0.05	Riesgo de sesgo poco claro	B
3	Short-term effect of chewing gums containing probiotic lactobacillus reuteri on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid	Twyman S.	Healthcare	2009	Q2	ECA	42 pacientes	15 una goma de mascar activa y placebo, 14 dos gomas activas, 13 dos gomas y placebo	SI	SI	Se evidenció un resultado significativo a favor para BOP mejorando el volumen de GCF, y disminuyendo los niveles de TNF- α y IL-8 durante el periodo del consumo de la goma de mascar	SPSS (versión 16.0; Chicago, IL)	p < 0.05	Bajo	B
4	Effect of tablets containing probiotic candidate strains on gingival inflammation and composition of the salivary microbiome- a randomised controlled trial	Keller MK	Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis	2017	Q1	ECA	47 pacientes	23 tabletas con probióticos y 24 placebo	SI	SI	Se evidencia que las citoquinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 no presentan ninguna alteración en los dos grupos del estudio	SPSS (versión 22.0; Chicago, IL)	p < 0.05	Bajo	A
5	The influence of a Bifidobacterium Animalis probiotic on gingival health: a randomized controlled clinical trial	Kuru B. E.	J. Periodontol	2017	Q1	ECA	51pacientes	26 yogurt con probiótico 25 Placebo	SI	SI	Se evidenció un resultado significativo a favor para todos los parámetros en el grupo de probióticos: puntuaciones mas bajas de placa y gingivitis menos sangrado al sondaje, menos aumento en el volumen de GCF y menor cantidad (concentración de IL 1 β)	Prueba Kolmogorov-smirnov	p < 0.001	Bajo	A

GCF: Líquido crevicular; ECA: Ensayo clínico aleatorizado; NP: No presenta; BOP: Índice de sangrado; TNF: Factor de necrosis tumor; IL: Interleucina

