



**EFFECTOS DE LA MELATONINA SOBRE LOS NIVELES CREVICULARES DE
ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES CON PERIODONTITIS**

**Yokasta Ramos¹, Ana Campos¹, Lisbeth Sosa², Karla Padrón³ Nuvia Sánchez², Anajulia
González⁴, Elix Izarra²**

1. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología.

2. Cátedra de Periodoncia. Facultad de Odontología de Universidad de Los Andes.

3. Grupo de Investigaciones Biopatológicas de la Universidad de Los Andes

**4. Centro de Investigaciones Odontológicas. Facultad de Odontología. Universidad de
Los Andes.**

CORRESPONDENCIA: Facultad de Odontología, Calle 23 entre avenidas 2 y 3, edificio El Rectorado, Departamento de Medicina Oral. Cátedra de Periodoncia. Universidad de Los Andes (ULA), Mérida-Venezuela. Teléfonos:+58274-2402378; +58424-2594154

Email: lissosa25@gmail.com.

RESUMEN

La enfermedad periodontal se produce luego de la acumulación de la biopelícula dental, que genera una respuesta inmunoinflamatoria produciendo estrés oxidativo y daños en el periodonto, con



sobreproducción de radicales libres y especies reactivas como el óxido nítrico (ON). En este sentido, la melatonina, una indolamina antioxidante, puede ser una alternativa para contrarrestar estos daños y favorecer la cicatrización periodontal. Por ello el objetivo, de este estudio fue evaluar la efectividad de la melatonina subgingival como coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis. Se seleccionaron 6 pacientes con periodontitis crónica; la muestra se dividió en lado control donde se realizó raspado y alisado radicular (RAR) y lado experimental (RAR + plasma gel con melatonina). Se tomaron muestras de fluido crevicular gingival (FCG) y mediciones de profundidad de sondaje. Se hicieron evaluaciones posteriores a los 15 y 45 días. Se realizó un análisis descriptivo y se utilizó la prueba *t student*. Encontrándose que los niveles de ON disminuyeron en el grupo experimental de $7,02 \pm 3,29 \mu\text{M}$ a $2,51 \pm 0,84 \mu\text{M}$, con respecto al grupo control $2,28 \pm 0,72 \mu\text{M}$ a $3,05 \pm 1,02 \mu\text{M}$ a los 15 y 45 días respectivamente; la profundidad de sondaje promedio para el grupo experimental fue de 6,13mm a 3,80 mm y para el grupo control de 6,10 mm a 4,50 mm al inicio y final del tratamiento. La melatonina local produce cambios clínicos en los tejidos periodontales con disminución de los niveles de nitritos en el grupo experimental, potenciando así los efectos de la terapia mecánica.

PALABRAS CLAVE: periodontitis, melatonina, antioxidante, óxido nítrico.

EFFECTS OF MELATONIN ON CREVICULAR NITRIC OXIDE LEVELS IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS



ABSTRACT

Periodontal disease occurs after the accumulation of dental biofilm, which generates an immunoinflammatory response producing oxidative stress and damage to the periodontium, with overproduction of free radicals and reactive species such as nitric oxide (NO). In this sense, melatonin, an antioxidant indolamine, can be an alternative to counteract these damages and promote periodontal healing. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effectiveness of subgingival melatonin as an adjunct in the treatment of periodontitis. 6 patients with chronic periodontitis were selected; The sample was divided into the control side where scaling and root planing (RAR) were performed and the experimental side (RAR + plasma gel with melatonin). Gingival crevicular fluid (FCG) samples and probing depth measurements were taken. Post evaluations were made at 15 and 45 days. A descriptive analysis was carried out and the student's T test was used. Finding that NO levels decreased in the experimental group from $7.02 \pm 3.29 \mu\text{M}$ to $2.51 \pm 0.84 \mu\text{M}$, with respect to the control group $2.28 \pm 0.72 \mu\text{M}$ to $3.05 \pm 1,02 \mu\text{M}$ at 15 and 45 days respectively; the mean probing depth for the experimental group was 6.13mm to 3.80mm and for the control group 6.10mm to 4.50mm at the beginning and end of treatment. Local melatonin produces clinical changes in periodontal tissues with decreased nitrite levels in the experimental group, thus enhancing the effects of mechanical therapy.

KEY WORDS: periodontitis, melatonin, antioxidant, nitric oxide



INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal comprende un conjunto de procesos patológicos, que afectan a los tejidos de soporte de los dientes de manera agresiva o crónica y si no se trata a tiempo puede conllevar a la pérdida de las piezas dentarias (1,2). Incluye 4 categorías generales: la gingivitis, la periodontitis, trastornos del desarrollo y adquiridos y

manifestaciones periodontales de enfermedades sistémicas y patologías y condiciones periimplantarias. Las lesiones asociadas con periodontitis incluyen pérdida ósea, pérdida de inserción, formación de sacos periodontales, movilidad dental y son irreversibles (3). La etiología de la enfermedad periodontal se ha asociado significativamente con el desbalance de los sistemas oxidantes/antioxidantes por la

sobreproducción de radicales libres (4). Es decir, un aumento en los niveles de radicales libres genera la oxidación y el daño de los tejidos (5). Un radical libre es un átomo o molécula que posee un electrón sin pareja en su orbital de balance, esto lo hace altamente reactivo y con una capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos vivientes (6).

El metabolismo del ser humano genera distintos tipos de radicales, uno de ellos es el óxido nítrico (ON), presente en bajas concentraciones en los tejidos periodontales, la saliva y en fluido crevicular gingival (FCG). Estudios han relacionado un aumento del óxido nítrico en fluido crevicular gingival y saliva con la presencia de periodontitis crónica (7,8). Otros han encontrado que existe una relación directamente proporcional entre las concentraciones de ON en saliva y la profundidad de las bolsas periodontales en pacientes con periodontitis



crónica moderada y avanzada; también se determinó que la presencia del óxido nítrico puede actuar como un potencial marcador biológico para la detección o monitoreo de la periodontitis crónica generalizada (9,10).

La melatonina es una indolamina producida principalmente por la glándula pineal (11). Presenta acciones inmunomoduladoras, antiinflamatorias, anticancerígenas, entre otras (12,13,14). Además, se ha planteado que juega un importante rol como protector celular gracias a su función antioxidante, ya que, es el recolector de radicales libres por excelencia (13,14). Debido a que, la patogénesis de la enfermedad periodontal se relaciona íntimamente con un incremento de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN), la acción recolectora de radicales libres de la melatonina, podría reducir el daño de los tejidos involucrados (4). Investigaciones previas sugieren que puede jugar un rol

significativo durante la enfermedad periodontal (15,16,17) ya que, se ha observado que los pacientes que presentan niveles de melatonina salival más bajos de lo normal, pueden tener una mayor probabilidad de desarrollar la patología (14). En este sentido, se ha evidenciado que los niveles de melatonina en el líquido crevicular gingival y la saliva, disminuyen en los tejidos periodontales enfermos, especialmente en la periodontitis (18,19,20).

Por otro lado, la melatonina estimula la síntesis de colágeno tipo I, promueve la diferenciación de osteoblastos y formación de hueso, regula la actividad osteoclástica y actúa como inhibidor natural de enzimas proinflamatorias (15,21). Por ello, el empleo de melatonina puede considerarse como tratamiento coadyuvante para la periodontitis crónica, sin embargo, su acción terapéutica en cavidad bucal se encuentra en estudio, por



lo cual, esta investigación busca relacionar los niveles de óxido nítrico en el fluido crevicular gingival antes y después del tratamiento periodontal con melatonina, con las características clínicas periodontales observadas.

METODOLOGÍA

Participantes

Se seleccionaron 6 pacientes que acudieron a la clínica de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes Mérida-Venezuela, con edades comprendidas entre 22 y 47 años, sistémicamente sanos, con diagnóstico de periodontitis crónica de moderada a severa (tomando en consideración para el momento de la realización de este estudio la clasificación de las enfermedades periodontales publicada por la Academia Americana de Periodoncia en el Workshop de 1999), con presencia de sacos

periodontales con profundidad ≥ 5 mm en dientes posteriores en cada hemiarcada. Cada paciente fue informado de la investigación, según las normas bioéticas derivadas de la declaración de Helsinki, para la investigación médica en seres humanos (22), leyó y firmó de manera voluntaria el consentimiento informado como requisito para participar. Se excluyeron de esta investigación aquellos pacientes con algún tipo de inmunosupresión, compromiso o enfermedad sistémica, fumadores o consumidores de chimó, que hubiesen recibido tratamiento farmacológico o antibiótico en los últimos 3 meses, que hubiesen recibido tratamiento periodontal mecánico en un periodo inferior a 6 meses, pacientes consumidores de sustancias alucinógenas y pacientes gestantes o en periodo de lactancia. En la primera cita se realizó el examen clínico y llenado del instrumento de recolección de datos, dentro



del cual se midió la profundidad del sondaje periodontal y el índice hemorrágico con una sonda periodontal de Williams calibrada marca HuFriede®. Se seleccionaron como dientes indicadores premolares y/o molares, mínimo 1 diente por cuadrante que presentaran sacos periodontales ≥ 5 mm. Los cuadrantes 1 y 4 conformaron el grupo experimental (13 cuadrantes) y los cuadrantes 2 y 3 el grupo control (8 cuadrantes). Luego se procedió a realizar el debridamiento supragingival manual y ultrasónico para reducir la cantidad de irritantes locales presentes.

Toma de muestra de fluido gingivo crevicular (FGC)

La recolección de la muestra de FCG se realizó en la segunda cita (Figura 1), antes de agregar el tratamiento con melatonina, a los 15 días de aplicar el tratamiento y a los 45 días posteriores a la aplicación del gel con

melatonina, en los dientes que fueron seleccionados como indicadores. Habiéndole indicado previamente a los pacientes suspender el consumo de vegetales verdes, frutas, nueces o suplementos vitamínicos y que evitaran realizar ejercicios físicos de intensidad media o alta, 24 horas antes a la toma de muestra.

Para la toma de la muestra se tomó como referencia el protocolo realizado por Sánchez y cols en 2015 (7). Primero se aisló la zona con rollos de algodón con el fin de evitar que se humedeciera el cono de papel con la saliva. Posteriormente se introdujo 1 cono por saco periodontal a 1mm de profundidad del surco, durante 30 segundos, en un solo punto del diente (el que presente mayor profundidad de sondaje) (Figura 1). Luego, las muestras fueron colocadas en tubos Eppendorf de 1,5ml a los que se le agregó 60µl de agua destilada y se almacenaron a -20°C en bolsas

selladas y debidamente etiquetadas para su posterior análisis.

Aplicación del tratamiento

Se tomó una muestra sanguínea del paciente y se realizó un gel a base de plasma pobre en plaquetas (23) donde se diluyeron 50µg de melatonina previamente pulverizada, luego esta preparación se cargó en una jeringa de insulina para proceder con su gelificación a través de cambios de temperatura. Luego se realizó el RAR correspondiente bajo anestesia local (lidocaína 2%). Se aplicó el

gel con melatonina (50µg/1ml gel) en los sacos periodontales del grupo experimental con una aguja corta de extremo plano, calibrada con la sonda periodontal, lo más apical posible, depositando el medicamento lentamente hasta llenar la totalidad del saco. Posteriormente, con una gasa se aplicó una presión suave por fuera a nivel de la encía marginal, para distribuir mejor el medicamento (Figura 1).



Figura 1. Fotografías del procedimiento de toma de muestra, tratamiento y determinación de ON.

Determinación de óxido nítrico

En esta etapa del procedimiento, los niveles de ON se midieron utilizando la reacción de Griess, acoplada a espectrofotometría; para determinar las concentraciones de nitrito en el fluido gingivo crevicular. Primero se realizó el cálculo de las concentraciones de los reactivos: NED 0.1037g/100ml, dapsone 0.345g/100ml, buffer (KCl 0.2N/25ml y HCl

0.2M/20.7ml) y NaNO_3 0.0072g/10ml. Seguidamente se realizó una curva de calibración partiendo de una concentración de nitrito de 10mM con sucesivas diluciones hasta llegar a $0.06\mu\text{M}$, midiendo los correspondientes valores de absorbancia que arrojaron una línea de tendencia con un valor de $R=1$ (Figura 2).

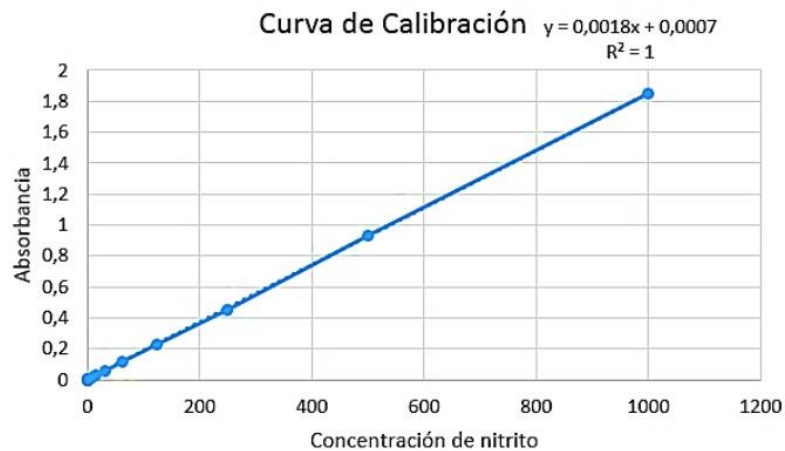


Figura 2. Curva de calibración

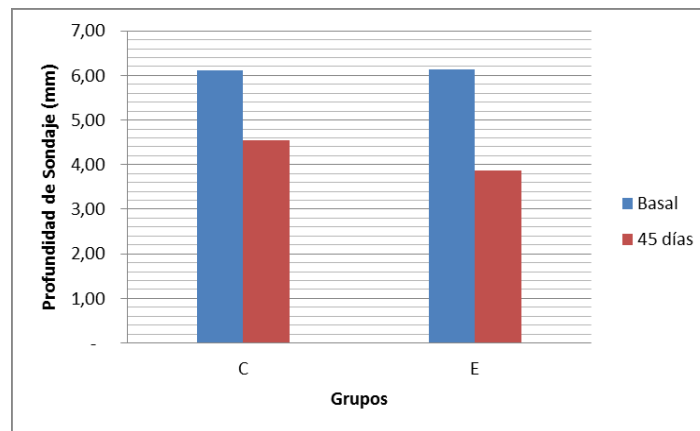


Figura 3. Sondaje por grupos control (C), experimental (E)

Luego se descongelaron las muestras de -20°C a 5°C y se centrifugaron a 4000rpm durante 40 minutos, modificando la técnica de referencia de Sánchez y cols en 2015 (7), en la cual centrifugaban la muestra a 800 rpm por 40 minutos. Para separar el FCG del cono de papel obteniendo un volumen aproximado de $50\mu\text{l}$. Se determinó el volumen de FCG pesando los conos de papel en una balanza analítica antes y después de la toma de la

muestra; la diferencia de los valores en gramos. Una vez que se extrajo el fluido de cada cono de papel, se retiraron los conos de los tubos Eppendorf, y en otro tubo se agregaron $100\mu\text{l}$ de dapsone aminophenylsulfone [97% FW-248,3 (Aldrich®, Milwaukee, USA) 14nM en 2NHCl], $100\mu\text{l}$ de NED [N-(1Naphthyl) ethylendiminedihydrochloride, FW 259,2 (Sigma®, Milwaukee, USA) 4nm en H_2O],



50µl de la muestra de FCG y 750µl de buffer (KCl-HCl) pH (1,5). Se realizó la agitación por 5 segundos e incubación por 10 min a 37°C. A continuación, se extrajeron 500µL del contenido de cada tubo (muestra + reactivos) en una cubeta de cuarzo para ser analizado en el espectrofotómetro previamente calibrado y con una longitud de onda de 540nm. Finalmente, se registraron las absorbancias obtenidas para calcular posteriormente los valores de ON empleando la fórmula de la ecuación de la recta.

RESULTADOS

Los valores obtenidos de los niveles de los niveles de óxido nítrico (ON) en los pacientes

del grupo control y experimental, se pueden observar en la tabla 1. Para el análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó estadística descriptiva y la prueba de *t Student* para muestras independientes. Dando como resultado que, al momento basal, a pesar de que existen en el lado control una variación grande, debido a los datos dispersos; los promedios obtenidos entre los grupos son similares y por ello comparables entre sí. Para este momento el grupo control presenta unos niveles de óxido nítrico ligeramente mayores ($3,61 \pm 2,25$) que el grupo experimental ($0,58 \pm 0,25$).

Tabla 1. Nivel Promedio de Óxido Nítrico en el Grupo Experimental y Grupo Control

Número de Registro	Niveles ON grupo control, µM (media ± DS)	Niveles ON grupo experimental, µM (media ± DS)	p valor
---------------------------	--	---	----------------



Basal	3,61 ± 2,25	0,58 ± 0,25	0,217
15 días	2,28 ± 0,72	7,02 ± 3,29	0,173
45 días	3,05 ± 1,02	2,51 ± 0,84	0,686

A los 15 días se observan cambios en las concentraciones de ON siendo mayores en el grupo experimental (7,02 ± 3,29) con respecto al grupo control (2,28 ± 0,72). En el registro a los 45 días los niveles de óxido nítrico de grupo experimental, disminuyeron con respecto a los 15 días (2,51 ± 0,84) y fueron menores que en el grupo control (3,05 ± 1,02) los cu

ales aumentaron con respecto al registro anterior. Con respecto al sondaje periodontal, como se puede observar la figura 3, luego del tratamiento la profundidad de los sacos periodontales disminuyó en promedio en ambos grupos, sin embargo, su

disminución fue mayor en el grupo experimental (de 6,13mm a 3,80mm) con respecto al gr

upo control (de 6,10 mm a 4,50mm). En la figura 4 se puede observar la correlación entre la profundidad del sondaje presentado por los pacientes y los niveles de óxido nítrico. En el registro basal, se aprecia que las condiciones de sondaje y ON en ambos grupos son similares. Sin embargo, se observan algunos valores dispersos en ambos grupos siendo el menor para el grupo experimental de 5,16 uM y el mayor para el grupo control de 19,05 uM, con sondaje de 5mm y 7mm respectivamente

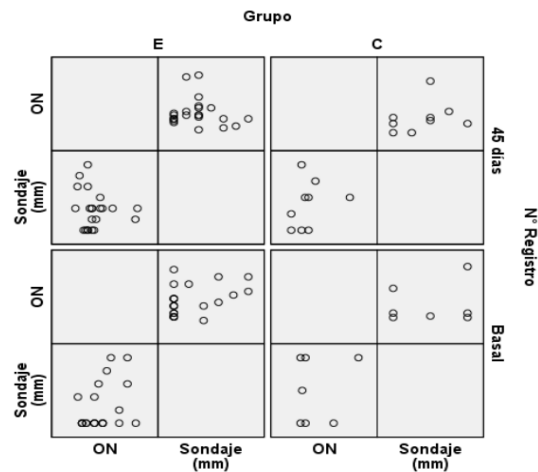


Figura 4. Correlación entre sondaje y niveles de ON

En el registro de los 45 días, luego de haber realizado el tratamiento. Se puede observar que la mayoría de los valores de ON se ubican en los niveles más bajos del eje del mismo, lo que indica que se agrupan en la zona que indica menor concentración. De igual forma, hay una disminución en las profundidades del sondaje periodontal también agrupándose la mayoría de los datos en la zona que se refiere a un mejor sondaje.

En el grupo control se observó que a los 45 días los niveles del óxido nítrico aumentaron y disminuyó la profundidad del sondaje con respecto al grupo experimental.

DISCUSION

Diversos estudios señalan que en la periodontitis crónica ocurre una sobreproducción de radicales libres y especies reactivas, que favorece el proceso de destrucción de los tejidos periodontales,



planteando una relación directamente proporcional entre las concentraciones de ON en FCG y la profundidad de las bolsas periodontales, probablemente por un desbalance entre el sistema antioxidante y oxidante (6, 8, 9).

La melatonina podría intervenir disminuyendo el ataque oxidativo de los tejidos periodontales, reduciendo los niveles de peroxidación lipídica y otros marcadores oxidativos a nivel de la cavidad bucal (21,24). Su acción antioxidante y barredora de radicales libres puede reducir el daño tisular, atrapando ERO y sus metabolitos en el área inflamada (13,19). Sin embargo, es importante considerar que no se hallaron trabajos sobre la valoración de la actividad de la melatonina frente al ON en periodontitis crónica. En tal sentido, los resultados de esta investigación se cotejarán con los resultados de investigaciones sobre ON medido en la periodontitis crónica, así como los efectos de

la melatonina, como tratamiento coadyuvante en la periodontitis crónica.

En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio se evidencia que al momento basal los niveles de óxido nítrico (ON) en el grupo control son ligeramente mayores ($3,61 \pm 2,25 \mu\text{M}$) que el grupo experimental ($0,58 \pm 0,25 \mu\text{M}$). Se infiere que esto pudo ocurrir por la presencia de datos dispersos de mayor magnitud en el lado control. Sin embargo, los grupos se encuentran en condiciones similares y son comparables entre sí, al momento inicial del experimento. No obstante, el promedio en ambos grupos es de $2,095 \mu\text{M}$ similar a los resultados basales $2,530 \pm 0,265 \mu\text{M}$ obtenidos en otro estudio (7).

De igual forma los valores de óxido nítrico mostraron un aumento a los 15 días de observación para el grupo experimental de $0,58 \pm 0,25$ a $7,02 \pm 3,29 \mu\text{M}$ y



posteriormente un descenso de $2,51 \pm 0,84$ μM a los 45 días. Por lo que se podría inferir que la melatonina tuvo un efecto tardío y a largo plazo, debido a la fijación del medicamento dentro del saco periodontal (14,19, 25). Para el grupo control, ocurrió lo opuesto, es decir, se observó que los valores de óxido nítrico aumentaron en el tiempo de $2,28 \pm 0,72$ a $3,05 \pm 1,02$ μM , a los 15 y 45 días respectivamente, aún con la realización de RAR y control de higiene bucal. Sin embargo, los cambios registrados en ambos grupos, no resultaron estadísticamente significativos ($p= 0,173$) a los 15 días y ($p=0,686$) a los 45 días, esto pudo deberse a la baja cantidad de la muestra.

En cuanto a la profundidad de los sacos periodontales disminuyó en promedio en ambos grupos luego del tratamiento, sin embargo, su disminución fue mayor en el grupo experimental con respecto al grupo

control. En nuestro estudio se logró observar a los 45 días, que aunque en ambos grupos hubo una disminución del sondaje, fue mayor en el grupo experimental (de 6,13 mm a 3,80 mm) con respecto al grupo control (de 6,10 mm a 4,50 mm), esto puede asociarse al efecto coadyuvante de la melatonina en la periodontitis crónica. Estos resultados concuerdan, con otro estudio realizado en 50 pacientes con diabetes y periodontitis, en el cual aplicaron melatonina por vía oral, los resultados plantean disminución en la profundidad de sondaje de 4.45 ± 0.96 mm a 2.59 ± 1.04 mm ($P<0.001$) en el grupo experimental después de 8 semanas de tratamiento, con respecto al grupo control cuyos valores fueron de 4.54 ± 1.01 mm a 4.36 ± 1.04 mm (26). Así mismo, Cutando y col., (27) aplicaron melatonina tópica al 1% en 30 pacientes con enfermedad periodontal, reportando cambios en la profundidad del sondaje, mediante mediciones



computarizadas de 28.3 ± 19.48 vs 11.9 ± 9.01 ($P < 0.001$) luego de 20 días de tratamiento.

Otra investigación realizada en 38 pacientes con periodontitis y tratados con melatonina por vía oral, arrojó en el grupo experimental, disminución en la profundidad de sondaje de 4.3 ± 0.8 mm a 2.4 ± 1.0 mm a los 3 meses y 2.3 ± 0.9 mm a los 6 meses ($P < 0.001$), con respecto al grupo control cuyos resultados fueron de 4.4 ± 0.7 mm, 3.1 ± 0.9 mm a los 3 meses y 3.0 ± 0.8 mm a los 6 meses ($P < 0.001$) (24). Los estudios mencionados, coinciden con lo que se observó en el grupo experimental, que presentó mayor disminución en la profundidad de sondaje luego de la terapia periodontal convencional empleando como coadyuvante la melatonina. En cuanto a la correlación entre los niveles de óxido nítrico y profundidad de sondaje basales del grupo experimental y grupo control, ambos grupos estadísticamente

presentan condiciones de igualdad, aunque se observan algunos valores dispersos en las concentraciones de ON en el grupo experimental.

En lo que respecta a los niveles de ON en el grupo experimental a los 45 días, sus niveles disminuyeron con respecto al registro de los 15 días, junto con la profundidad del sondaje, lo cual coincide con un estudio realizado en animales de experimentación con periodontitis inducida, donde el grupo tratado con melatonina, presentó menor de daño de los tejidos periodontales, al igual que la concentración de marcadores oxidativos, entre ellos el óxido nítrico (25). En contraposición, en el grupo control se observó que los niveles del óxido nítrico aumentaron, con disminución en la profundidad del sondaje este último parámetro, similar que en el grupo experimental. No obstante, los resultados observados en el grupo control se contradicen



con lo encontrado en la literatura, donde al disminuir la profundidad de sondaje también disminuyen los niveles de ON (7, 8,28). Sin embargo, existe pocos hallazgos en los cuales los niveles de ON luego del tratamiento periodontal fueron menores, Ozer y col., (29) evaluaron los niveles de NO, arginasa y ornitina descarboxilasa en muestras de saliva de 9 pacientes con gingivitis, 15 con periodontitis crónica y 11 sujetos sanos, antes y después del tratamiento periodontal. Los valores de nitritos previos al tratamiento fueron de $94,2 \pm 10,1 \mu\text{mol /g}$ en individuos con gingivitis, en periodontitis $23,9 \pm 6,3 \mu\text{mol /g}$ y en sanos $58,5 \pm 13,1 \mu\text{mol /g}$; los autores hallaron luego de la cuarta semana de tratamiento periodontal convencional disminución en los niveles de nitrito en los casos de gingivitis y aumento en los casos de periodontitis. Así como Aurer y col., (30) también, encontraron concentraciones basales menores de NO, en saliva de

pacientes con periodontitis rápidamente progresiva y pacientes con periodontitis del adulto, en comparación con individuos sanos. En el presente estudio, al relacionar los cambios clínicos y nivel de óxido nítrico en los tejidos periodontales, antes y después del tratamiento convencional empleando como coadyuvante la melatonina subgingival, se encontró que existe una relación favorable entre la disminución de nitritos (ON) en el fluido crevicular gingival y disminución en la magnitud de los signos clínicos de enfermedad periodontal, lo cual se ve reflejado en una disminución de la profundidad del sondaje periodontal. Tal y como lo señalan algunos autores quienes demostraron que los niveles de melatonina en GCF, saliva y suero de pacientes que padecen periodontitis crónica se reducen, lo que sugiere que puede desempeñar un papel fundamental en la protección del tejido del daño causado por el estrés oxidativo (31).



Esto podría proporcionar un apoyo no farmacológico para mejorar la cicatrización periodontal de los sitios periodontales después de la terapia de raspado y alisado radicular (32).

De acuerdo a los resultados obtenidos siguiendo las condiciones de este estudio, es posible inferir que el gel de melatonina, aplicado de forma subgingival, como terapia coadyuvante al tratamiento convencional, ejerce un efecto favorable en la periodontitis crónica, por lo que se puede considerar como una alternativa que merece ser investigada de forma exhaustiva, y que puede ser utilizada a nivel terapéutico en la práctica odontológica.

Por lo mencionada anteriormente, se sugiere evaluar en futuras investigaciones el efecto antioxidante de la melatonina aplicada de forma subgingival, como coadyuvante al tratamiento convencional en la periodontitis crónica, tomando en cuenta: mayor número

de individuos, ajustar la dosis y tiempo de aplicación del tratamiento, toma de muestras basales, sin tratamiento convencional previo a los 6 meses; así como la evaluación de otros cambios clínicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Investigaciones de la Facultad de Odontología, Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular de la Universidad de Los Andes, y a la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes por su participación en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Genco RJ, Williams RC. Enfermedad Periodontal y Salud General: Una Guía para el Clínico. Siegel SM, Rizzo Mi, Siegel TS, Downs AE, Allegheny Writing & Publishing Services L, editores. Yardley, Pennsylvania,



USA: Professional Audience Communications Inc; 2011. 321 p.

2. AAP. Glossary of Periodontal Terms. 4th etidio. Chicago; 2001. 56 p.

3. Herrera D, Figuero E, Shapira L, Jin L, Sanz M. La nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias. Revista científica de la Sociedad Española de Periodoncia. 2018; 11: 93-110.

4. Maldonado O, Jiménez E, Guapillo M, Ceballos G, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónicodegenerativas. Rev Med UV. 2010;(272):8.

5. Avello, Marcia, & Suwalsky, Mario. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción), (494), 161-172. Nuevo

6- Silva D, Rico J, Partata E, Rivas J, Corrêa B, Spolidorio L, et al. El papel del óxido nítrico en la moduclación del proceso inflamatorio de la enfermedad periodontal. Acta Odontológica Venez. 2011;49 (4):1-9.

7.- Sánchez N, Ortiz R, González A, Quiñonez B, Solórzano E. Efecto del Propóleo sobre los niveles de óxido nítrico en la periodontitis crónica. Acta Bioclínica. 2015;2(10):22. 25.

8.- Reher VGS, Zenóbio EG, Costa FO, Reher P, Soares R V. Nitric oxide levels in saliva increase with severity of chronic periodontitis. J Oral Sci. 2007;49(4):271-6.

9 -Batista, A., Silva, T., Chun, J. and Lara, V. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. Oral Diseases. 2002; 8: 254-260. 19

10.-Menaka K, Ramesh A, Thomas B, Kumari NS. Estimation of nitric oxide as an



inflammatory marker in periodontitis. J Indian Soc Periodontol. 2009;13: 75-78.

11.-Domínguez-Rodríguez A, Samimi-Fard S, Abreu-González P, Carlos Kaski J. Melatonina y aterosclerosis coronaria. Clin e Investig en Arterioscler. 2009;21(5):247-56

12. Chava VK, Sirisha K. Melatonin: A novel indolamine in oral health and disease. Int J Dent. 2012;2012: 9

13. Vielma JR, Bonilla E, Chacín-Bonilla L, Mora M, Medina-Leendertz S, Bravo Y. Effects of melatonin on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: A review. Acta Trop. Elsevier B.V.; 2014;137:31-8.

14.- Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Acuña-Castroviejo D, Reiter RJ. Melatonin: potential functions in the oral cavity. J Periodontol. 2007;78(6):1094-102.

15.-14. Reiter RJ, Rosales-Corral S a., Liu XY, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX. Melatonin in the oral cavity: Physiological and pathological implications. J Periodontal Res. 2014; 50:9-17. 12

16. Cengiz Mİ, Cengiz S, Wang H-L. Melatonin and Oral Cavity. Int J Dent. 2012;2012:1-9.

17. Cutando A, Aneiros-Fernández J, López-Valverde A, Arias-Santiago S, Aneiros-Cachaza J, Reiter RJ. A new perspective in Oral health: Potential importance and actions of melatonin receptors MT1, MT2, MT3, and RZR/ROR in the oral cavity. Arch Oral Biol. 2011;56 (10):944-50. 14

18. Srinath R, Acharya AB, Thakur SL. Salivary and Gingival Crevicular Fluid Melatonin in Periodontal Health and Disease. J Periodontol. 2010;81(2):277-83



19 Siu AW, Maldonado M, Sanchez-Hidalgo M, Tan DX, Reiter RJ. Protective effects of melatonin in experimental free radical-related ocular diseases. *J Pineal Res.* 2006;40(2):101-9. 21.

20.- Almughrabi O, Marzouk K, Hasanato R, Shafik S (2013) Melatonin levels in periodontal health and disease. *J Periodontal Res* 48(3):315–321.

21.- Arana C. Melatonina, estrés oxidativo y osteointegración en la cavidad oral. Universidad de Granada. Facultad de odontología y medicina; 2006 22.

22.- Manzini J. Declaración de Helsinki: Principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. *Acta Bioethica* 2000; 6(2):321-334.

23.- Rodríguez J, Palomar M, García T. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía

maxilofacial y estética facial. *Rev Esp Cir OralMaxilofac*; 2012; 3 4(1); 8-17.

24.-El-Sharkawy H, Elmeadawy S, Elshinnawi U, Anees M. Is dietary melatonin supplementation a viable adjunctive therapy for chronic periodontitis? A randomized controlled clinical trial. *J Periodontal Res.* 2019; 54(2):190-197.

25.- Kara A, Akman S, Ozkanlar S, Tozoglu U, Kalkan Y, Canakci CF, et al. Immune modulatory and antioxidant effects of melatonin in experimental periodontitis in rats. *Free Radic Biol Med* [Internet]. Elsevier; 2013;55:21-6. (4)

26.- Bazyar H, Gholinezhad H, Moradi L, Salehi P, Abadi F, Ravanbakhsh M, Javid A. The effects of melatonin supplementation in adjunct with non-surgical periodontal therapy on periodontal status, serum melatonin and inflammatory markers in type



2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Inflammopharmacology*. 2019; 27(1):67-76.

27.- Cutando A, Montero J, Gómez-de Diego R, Ferrera MJ, Lopez-Valverde A. Effect of topical application of melatonin on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in patients with type 1 or type 2 diabetes and periodontal disease. *J Clin Exp Dent*. 2015; 1;7(5):e628-633.

28.- Parwani S, Chitnis P, Parwani R. Salivary nitric oxide levels in inflammatory periodontal disease - A case-control and interventional study. *Int J Dent Hyg* 2012; 10: 67-73.

29.- Ozer L, Elgun S, Ozdemir B, Pervane B, Ozmeric N. Arginine-nitric oxide-polyamine

metabolism in periodontal disease. *J Periodontol* 2011; 82(2): 320-328.

30.- Aurer, A., Aleksić, J., Ivić-Kardum, M., Aurer, J. and Čulo, F. Nitric oxide synthesis is decreased in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2001; 28: 565-568.

31.- Meenakshi SS, Malaiappan S. Role of melatonin in periodontal disease - A systematic review. *Indian J Dent Res*. 2020;31(4):593-600

32.- Tinto M, Sartori M, Pizzi I, Verga A, Longoni S. Melatonin as host modulating agent supporting nonsurgical periodontal therapy in patients affected by untreated severe periodontitis: A preliminary randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *J Periodontal Res*. 2020;55(1):61-67.