UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

Marina Módolo Cláudio

Efeito da associação do oxigênio ativo e terapia fotodinâmica no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes diabéticos tipo 2: estudo clínico controlado randomizado

ARAÇATUBA – SP
2022

MARINA MÓDOLO CLÁUDIO

Efeito da associação do oxigênio ativo e terapia fotodinâmica no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes diabéticos tipo 2: estudo clínico controlado randomizado

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – Unesp, para a obtenção do Grau de Doutor em Odontologia – Área de Concentração Periodontia.

Orientadora: Profa. Associada Letícia Helena Theodoro
Coorientador: Professor Titular Valdir Gouveia Garcia

ARAÇATUBA – SP
2022

Catalogação na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Cláudio, Marina Módolo.
C615e Efeito da associação do oxigênio ativo e terapia fotodinâmica no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes diabéticos tipo 2 : estudo clínico controlado randomizado / Marina Módolo Cláudio. - Araçatuba, 2022
63 f. : il. ; tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientadora: Profa. Letícia Helena Theodoro
Coorientador: Prof. Valdir Gouveia Garcia

1. Periodontite 2. *Diabetes mellitus* 3. Bolsa periodontal 4. Fotoquimioterapia I. T.

Black 6
CDD 617.63

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico este trabalho à meus pais, *Fátima Aparecida Módolo Cláudio* e *Welton Márcio Cláudio*, e também ao meu esposo *Renan Guarnieri*. Com certeza todo amor, apoio e incentivo durante essa jornada, vieram de vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço a Deus pela oportunidade de ter vivenciado esse período do doutorado. Com certeza foi um desafio conciliar tudo e tentar fazer sempre o melhor que podia. Sou grata a tudo que tenho e sou.

Agradeço à minha mãe *Fátima Aparecida Módolo Cláudio* e ao meu pai *Welton Márcio Cláudio*, que desde o primeiro instante da minha vida acreditaram em mim e me amaram da forma mais incondicional que se pode amar. Obrigada pelo amor, exemplo, carinho, paciência e força. Vocês são meu maior tesouro, meu maior orgulho e inspiração.

Agradeço ao meu companheiro e esposo *Renan Guarnieri*, que com todo amor me apoiou e me fortaleceu. Seu companheirismo e carinho foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Agradeço ao meu padrinho, *Antonio Alberto Zambom*, e à minha madrinha, *Izabel Keiko Zambom*, por todo apoio, incentivo e exemplo. Sou eternamente grata ao amor e cuidado de vocês.

Agradeço ao meu amigo *João Victor Rodrigues*, a grande amigo que a pós-graduação me deu. Obrigada pelo companheirismo durante esses anos. Levarei você sempre comigo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente minha orientadora, professora *Leticia Helena Theodoro* que me incentivou a seguir minha trajetória. A senhora sempre foi e será exemplo de profissional para mim. Tenho muito orgulho em ser sua orientada.

Agradeço ao meu coorientador professor *Valdir Gouveia Garcia*, pelo grande exemplo que é para mim e para a periodontia.

Agradeço ao professor *Renato Viana Casarin*, por toda ajuda, materiais cedidos e experimento realizado. O senhor também é um grande exemplo de profissional para mim! Sou muito grata por tudo que fez por nós.

Agradeço a amiga de pós-graduação e agora professora *Thamiris Cirelli*, pelo auxílio nas análies estatísticas. Sou muito grata por toda ajuda.

Agradeço a empresa blue®m oral care, pelo auxílio financeiro para desenvolvimneto de algumas etapas do estudo.

Agradeço imensamente à professora *Cristiane Duque*, que foi fundamental para o desenvolvimento dos experimentos de PCR. Estendo meus agradecimentos à *Natália Vissoto* por todo auxílio.

Agradeço diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, professor *Glauco Issamu Miyahara* e vice-diretor *Alberto Carlos Botazzo Delbem* e ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Odontologia professor *Wirley Gonçalves Assunção* e a vice-coordenadora professora *Roberta Okamoto*. Agradeço a todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- UNESP. E por fim, agradeço à Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela oportunidade. Obrigada por ser minha casa durantes esses 11 anos e me acolher tão bem.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo grande incentivo na forma de Bolsa de Doutorado.

"Uma vida boa é aquela inspirada pelo amor e guiada pelo conhecimento."

Bertrand Russell

Cláudio MM. Efeito da associação do oxigênio ativo e terapia fotodinâmica no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes diabéticos tipo 2: estudo clínico controlado randomizado [tese]. Araçatuba: UNESP – Universidade Estadual Paulista; 2022.

RESUMO

Objetivo do presente estudo clínico controlado randomizado foi avaliar o efeito do gel de liberação de oxigênio ativo associado ou não à terapia fotodinâmica, no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes com Diabetes Melito tipo 2 (DM2) e periodontite. Cinquenta e um pacientes diabéticos não compensados com periodontite estágio III e IV grau C em terapia de manutenção foram selecionados e alocados: grupo RAR (n=17) - raspagem e aplainamento radicular (RAR) em uma única sessão; grupo BM (n=17) - RAR em sessão única com aplicação do gel de oxigênio ativo (blue®m) no interior da bolsa periodontal (quantidade de 0,4ml) por 3 minutos, seguido da aspiração do gel; grupo BM+aPDT (n=17) - RAR em sessão única seguida da aplicação local de blue®m durante 3 minutos, aspiração do gel e irrigação da bolsa com azul de metileno (100 μg/ml), e após 1 minuto irradiação com laser de diodo (AlGaInP, 660±10 nm) durante 50 segundos. Parâmetros clínicos peridontais, presença de bolsas residuais e níveis séricos de hemogloblina glicada, análise imunológica e microbiológica foram avaliados. Todos os dados foram submetidos à análise estatística (α=5%). Foi verificada redução de SS aos 90 e 180 dias no grupo BM+aPDT ($p<0,05$). A porcentagem de sítios com PS ≥ 4mm reduziu aos 90 dias no grupo BM+aPDT e grupo BM, enquanto que aos 180 dias, apenas o grupo BM, apresentou redução ($p<0,05$). Grupo RAR e BM+aPDT apresentaram redução de bolsas residuais aos 90 e 180 dias, enquanto que o grupo BM, apresentou redução somente aos 90 dias ($p<0,05$). O grupo BM+aPDT foi capaz de reduzir níveis de TNF-α aos 90 dias. Não foram detectadas diferenças entre os níveis de *P. gingivalis* e *P. intermedia.* Conclui-se que o uso do gel de liberação de oxigênio ativo associado ou não a aPDT promoveu benefícios clínicos adicionais no tratamento de bolsas residuais em indivíduos com DM2.

Palavras-chave: Periodontite, diabetes melito, bolsa periodontal, fotoquimioterapia.

Cláudio MM**.** Effect of active oxygen and photodynamic therapy on the periodontal treatment of residual pockets in diabetes mellitus patient: a randomized clinical study. [thesis]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2022.

ABSTRACT

The aim of this randomized controlled clinical study was to evaluate the effect of active oxygen release gel associated or not with photodynamic therapy in the treatment of residual periodontal pockets in patients with Type 2 Diabetes Mellitus (DM2) and periodontitis. Fifty-one diabetic patients not compensated with periodontitis stage III and IV grade C in maintenance therapy were selected and allocated: RAR group (n=17) - root scraping and flattening (RAR) in a single session; group BM (n=17) - RAR in a single session with application of active oxygen gel (blue m®) inside the periodontal pouch (amount of 0.4ml) for 3 minutes, followed by gel aspiration; BM+aPDT group (n=17) - RAR in a single session followed by local application of blue®m for 3 minutes, gel aspiration and irrigation of the bag with methylene blue (100 μg/ml), and after 1 minute diode laser irradiation (AlGaInP, 660±10 nm) for 50 seconds. Peridontal clinical parameters, presence of residual pockets and serum levels of glycated hemoglobin, immunological and microbiological analysis were evaluated. All data were submitted to statistical analysis (α=5%). SS reduction was observed at 90 and 180 days in the BM+aPDT group ($p<0.05$). The percentage of sites with PS ≥ 4mm decreased at 90 days in the BM+aPDT group and bm group, while at 180 days, only the BM group, showed a reduction ($p<0.05$). The RAR group and BM+aPDT showed a reduction in residual pockets at 90 and 180 days, while the BM group showed a reduction only at 90 days ($p<0.05$). The BM+aPDT group was able to reduce TNF-α at 90 days. No differences were detected between the levels of P. gingivalis and P. intermedia. It was concluded that the use of active oxygen release gel associated or not with aPDT promoted additional clinical benefits in the treatment of residual pockets in individuals with DM2.

Keywords: Periodontitis, Diabetes mellitus, Periodontal Pocket, Photochemotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 *Flowchart* do estudo 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Dados demográficos, média e desvio padrão (M±DP) da Hemoglobina glicada (HbA1c) no baseline e aos 180 dias após o tratamento. 45

Tabela 2 Média (M ± DP) dos parâmetros clínicos periodontais em cada período de avaliação e grupo de tratamento. 46

Tabela 3 Médias (M ± DP) das bolsas periodontais com PS ≥4mm e do NIC no *baseline*, 90 e 180 dias após o tratamento. 48

Tabela 4 Análise do número de pacientes que atingiram o *endpoint* de ≤ 4 sítios com PS ≥ 5mm após o tratamento. 49

Tabela 5 Concentração do fluido crevicular gengival (proteína pg/mg) de cada marcador nos grupos RAR, BM+aPDT e BM, no baseline, 90 e 180 dias após o tratamento (média ± DP) 50

Tabela 6 Média (± DP) dos níveis (ng/ml) de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* no baseline, 90 e 180 dias. 51

LISTA DE ABREVIATURAS

AGEs: Produtos finais de glicação avançada

aPDT: Terapia fotodinâmica antimicrobiana

DM2: Diabetes melito tipo 2

HbA1c: Hemoglobina glicada

IHO: Instrução de Higiene Oral

InGaAlP- Indio Gálio Alumínio Fósforo.

IPV: Índice de placa visível

J/cm^2 - Joules por centímetro quadrado.

Joule - Unidade de energia, abreviada como J.

Laser - *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (Luz Amplificada pela Emissão Estimulada de Radiação).

mg – Miligrama.

mL - Mililitros, equivalente à milésima parte do litro.

mm – Milímetro, equivalente à milésima parte do metro.

mW - Miliwatt - Milionésima parte do Watt 1/1000 Watt.

NIC: Nível de inserção clínica

nm: nanometro

ng/mL: nanograma por mililitro

pc/mg: picograma po miligrama

PS: Profundidade de sondagem

RAGEs: Receptores de produtos finais de glicação avançada

RAR: Raspagem e Alisamento Radicular

SS: Sangramento à sondagem

SUMÁRIO

1 EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DO OXIGÊNIO ATIVO E TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE BOLSAS PERIODONTAIS RESIDUAIS EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2: ESTUDO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO. 15
1.1 Resumo 16
1.2 Introdução 17
1.3 Metodologia 20
1.3.1 Desenho experimental 20
1.3.2 Cálculo da amostra 20
1.3.3 Seleção da amostra 20
1.3.4 Calibração do examinador 21
1.3.5 Desenho experimental e tratamento 21
1.3.6 Desfechos clínicos primário e secundários 22
1.3.7 Coleta microbiológica 23
1.3.8 Coleta do fluido gengival para análise de marcadores imunoinflamatórios 23
1.3.9 Análise dos resultados 24
1.3.9.1 Análise clínica 24
1.3.9.2 Análise glicêmica 24
1.3.9.3 Análise e processamento microbiológico 24
1.3.9.4 Análise e processamento imunológico 25
1.3.10 Análise estatística 25
1.4 Resultados 27
1.4.1 Achados clínicos 27
1.4.2 Achados imunológicos e microbiológicos 28
1.5 Discussão 29
1.6 Conclusão 34
1.7 Referências 36
ANEXOS 51

Manuscrito para Publicação [1]

[1] Normalização Segundo a Revista *"Journal of Periodontology"*.

1 EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DO OXIGÊNIO ATIVO E TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE BOLSAS PERIODONTAIS RESIDUAIS EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2: ESTUDO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO

Cláudio MM[1], Garcia VG[2], Theorodo LH[3].

[1] Marina Módolo Cláudio – Estudante de doutorado – Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia de Araçatuba (UNESP), Araçatuba, SP, Brasil.

[2] Valdir Gouveia Garcia – Professor Titular – Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico (ILAPEO), Curitiba, PR, Brasil.

[3] Letícia Helena Theodoro – Professora Adjunta - Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia de Araçatuba (UNESP), Araçatuba, SP, Brasil

¶ Autor correspondente: E-mail: leticia.theodoro@unesp.br (autorizado para publicação) fone/fax 551836363200

Palavras chave: Periodontite, diabetes melito, bolsa periodontal, fotoquimioterapia.

Palavras: 5.287

Número de figuras: 1

Número de tabelas: 6

Número de referências: 60

Título de execução curta: aPDT e gel de oxigênio ativo no tratamento de manutenção periodontal em pacientes com diabetes tipo 2.

Achado-chave: aPDT associada ao gel de liberação de oxigênio ativo é uma terapia coadjuvante benéfica para o tratamento da periodontite em pacientes diabéticos tipo 2.

Contribuição dos autores:

Marina Módolo Cláudio executou a pesquisa, enquanto que Letícia Helena Theodoro e Valdir Gouveia Garcia idealizaram o estudo e deram o suporte necessário para o desenvolvimento deste trabalho.

1.1 Resumo

Objetivo: Avaliar o efeito do gel de liberação de oxigênio ativo associado ou não à terapia fotodinâmica, no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes com Diabetes Melito tipo 2 (DM2) e periodontite.

Metodologia: Cinquenta e um pacientes diabéticos não compensados com periodontite estágio III e IV grau C em terapia de manutenção foram selecionados e alocados: grupo RAR (n=17) - raspagem e aplainamento radicular (RAR) em uma única sessão; grupo BM (n=17) - RAR em sessão única com aplicação do gel de oxigênio ativo (blue®m) no interior da bolsa periodontal (quantidade de 0,4ml) por 3 minutos, seguido da aspiração do gel; grupo BM+aPDT (n=17) - RAR em sessão única seguida da aplicação local de blue®m durante 3 minutos, aspiração do gel e irrigação da bolsa com azul de metileno (100 μg/ml), e após 1 minuto irradiação com laser de diodo (AlGaInP, 660±10 nm) durante 50 segundos. Parâmetros clínicos peridontais, presença de bolsas residuais e níveis séricos de hemoglobina glicada, análise imunológica e microbiológica foram avaliados. Todos os dados foram submetidos à análise estatística (α=5%).

Resultados: Foi verificada redução de SS aos 90 e 180 dias no grupo BM+aPDT ($p<0,05$). A porcentagem de sítios com PS ≥ 4mm reduziu aos 90 dias no grupo BM+aPDT e grupo BM, enquanto que aos 180 dias, apenas o grupo BM, apresentou redução ($p<0,05$). Grupo RAR e BM+aPDT apresentaram redução de bolsas residuais aos 90 e 180 dias, enquanto que o grupo BM, apresentou redução somente aos 90 dias ($p<0,05$). O grupo BM+aPDT foi capaz de reduzir níveis de TNF-α aos 90 dias. Não foram detectadas diferenças entre os níveis de *P. gingivalis* e *P. intermedia.*

Conclusão: Conclui-se que o uso do gel de liberação de oxigênio ativo associado ou não a aPDT promoveu benefícios clínicos adicionais no tratamento de bolsas residuais em indivíduos com DM2.

1.2 Introdução

A periodontite é uma doença inflamatória crônica caracterizada pela inflamação associada a disbiose microbiana, mediada pelo hospedeiro, que resulta em perda dos tecidos de suporte dental.[1] A disbiose ocorre devido ao processo de sucessão microbiana que é influenciado pela inflamação na bolsa periodontal.[2] Sua prevalência global para a periodontite severa é estimada em 11,2% da população, sendo que a periodontite leve chega a índices de até 50% da população mundial.[3] Muitas condições e doenças sistêmicas podem afetar o desenvolvimento da periodontite, influenciando negativamente o aparato de inserção periodontal.[4] A Diabetes Melito (DM) é considerada como um fator modificador da periodontite, sendo que o controle glicêmico do paciente influencia na graduação da periodontite.[4]

A DM também é uma doença crônica associada a inflamação, altamente prevalente na população mundial, sendo considerada um problema de saúde pública.[5] Em 2017, 451 milhões de indivíduos apresentavam DM no mundo, sendo que até 2045 estima-se que este número chegue a 693 milhões de pessoas.[5] Dentro de suas divisões diagnósticas, a maior parte da população diabética apresenta a DM tipo 2 (DM2) que está associada muitas vezes à obesidade e inatividade física, resultando na resistência à ação da insulina.[6] Há uma relação bidirecional entre a periodontite e a DM2.[7] Ambas as condições estão associadas a alterações no sistema imuno-inflamatório.[8] Em uma análise sistêmica, níveis de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina (IL) -1, IL-6 e fator de necrose tumoral-α (TNF-α) apresentam-se acentuados no DM2 e na periodontite, desencadeando uma cascata de eventos que resultam em maior destruição dos tecidos periodontais.[8] Pacientes com valores de hemoglobina glicada (HbA1c) superiores ou iguais a 7%, tendem a apresentar maior desenvolvimento e progressão da periodontite.[9]

As etapas do tratamento periodontal englobam o controle do biofilme supragengival associado a motivação do paciente e redução dos fatores de risco, seguido pelo controle do biofilme subgengival.[3] Nos casos em que após o tratamento ainda persistem bolsas periodontais PS≥4mm com SS ou bolsas profundas (PS≥6mm), há a necessidade de reintervenção, seja ela cirúrgica ou associada a terapias coadjuvantes.[3] Pacientes diabéticos descompensados com periodontite tendem a responder de forma menos efetiva ao tratamento não cirúrgico, do que pacientes não diabéticos ou diabéticos compensados.[10]

Estes indivíduos apresentam maior número de bolsas residuais após a raspagem e alisamento radicular (RAR), que são consideradas um desafio para o tratamento convencional[11] e preditor da progressão da periodontite.[12]

Dessa forma, o uso de terapias coadjuvantes deve ser considerado, em especial, no tratamento de diabéticos não compensados, devido alterações no reparo de tecidos bucais, em função do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, TNF-α e AGEs que pode ter efeitos diretos em osteoblastos e fibroblastos, reduzindo formação de colágeno, ou indiretamente, agravando a inflamação e apoptose de células produtoras de matriz.[31]

O mecanismo através do qual a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) atua sobre os microrganismos envolve a utilização de um agente fotosensibilizador, fonte de luz e presença de oxigênio. Quando iluminado por uma fonte de luz com determinado comprimento de onda, o fotoantimicrobiano ligado a célula-alvo absorve energia. Ocorre uma reação com as moléculas de oxigênio presentes e produção de substâncias como oxigênio singleto e radicais livres, citotóxicos à vários microrganismos.[14] A aPDT resulta na produção principalmente de oxigênio singleto,[15] que pode atuar em bactérias, vírus, protozoários e fungos.[14] Dentre as vantagens da aPDT incluem-se a baixa probabilidade de provocar resistência bacteriana, ser um procedimento clínico local não invasivo de curta duração, que não causa danos aos tecidos moles adjacentes,[16] apresentar baixo custo e ser de fácil utilização,[17] além de apresentar benefícios no tecido advindos da ação do laser de baixa potência que está associado a aPDT, promovendo a fotobiomodulação.

Uma outra terapia coadjuvante que vem sendo pesquisada é a aplicação tópica de produtos de liberação de oxigênio ativo na periodontite e peri-implantite.[18,19] A aplicação tópica do gel de liberação de oxigênio ativo no interior da bolsa periodontal é capaz de liberar O_2, sem liberar radicais de O_2 como em soluções de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e sem induzir danos ao DNA das células da mucosa, ou carcinogénese.[20] Isso por que o gel de liberação de oxigênio ativo apresenta em sua composição o perborato de sódio, sendo este componente capaz de gerar baixa concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em soluções aquosas. Arito covid e 35 que peguei35. A fórmula do blue®m fornece liberação controlada de oxigênio ativo (0,5-1% H2O2) sem gerar radicais hidroxílicos.[21] Estudos *in vitro* demonstraram que o gel de liberação de oxigênio ativo pode obstruir o crescimento e desenvolvimento de bactérias periodontopatogênicas bem reconhecidas como *P. gingivalis*,

T. Forsythia, *P. intermedia* e *E. notadum*, em modelo *in vitro* de biofilme subgingival multiespécie.[22] Além disso, em avaliação clínica, a fórmula do blue®m mostrou eficácia antimicrobiana contra a colonização e crescimento de biofilmes patogênicos associados a infecções bucais, sendo assim poderia ser uma terapia coadjuvante indicada no tratamento das bolsas periodontais ativas. [21,22]

Frente a necessidade de terapia coadjuvantes que auxiliem no controle de bolsas residuais durante a terapia de manutenção em pacientes diabéticos descompensados, a hipótese do presente estudo é de que o uso associado da aPDT com o gel de liberação de oxigênio ativo seja eficiente como coadjuvante ao tratamento da periodontite em pacientes diabéticos tipo 2, podendo promover benefícios clínicos, microbiológicos e melhora no controle da resposta imunoinflamatória em pacientes diabéticos e com periodontite.

Diante destes fatos e da escassez de estudos que avaliaram o efeito do gel de liberação de oxigênio ativo e da aPDT no tratamento de bolsas residuais em diabéticos não compensados, constitui objetivo do presente estudo avaliar por meio de estudo clínico controlado randomizado, um protocolo de terapia de manutenção utilizando aPDT associada ou não ao uso local do gel de liberação de oxigênio ativo, como terapia coadjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico de bolsas residuais em indivíduos com DM2 não compensada.

1.3 Metodologia

1.3.1 Desenho experimental

Este estudo clínico controlado randomizado paralelo, duplo-cego realizado em um único centro comparou a eficácia da oxigenioterapia associada ou não ao uso da aPDT, desenvolvido de janeiro de 2019 a dezembro de 2021. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP (CAAE: 16297119.2.0000.5420). Além disso, foi registrado no *International Clinical Trials Registry Platform* (U1111-1235-9625), no SISGEN (A9F5E0B) e seguiu as orientações do *Consort Statement* para estudos clínicos.[23]

1.3.2 Cálculo da amostra

O tamanho da amostra foi calculado para fornecer 80% de poder para reconhecer uma diferença significativa de 1 mm no nível clínico de inserção entre os grupos e assumindo um desvio padrão de 1 mm (www.lee.dante.br). Sendo assim, um total de 14 pacientes seriam necessários[24,] e considerando uma perda de 20% foram incluídos 17 pacientes por grupo, resultando em um total de 51 pacientes.

1.3.3 Seleção da amostra

Cinquenta e um pacientes com periodontite e com diagnóstico médico de DM2 não compensados (HbA1c ≥ 7,0 %), em terapia de manutenção periodontal foram recrutados da Clínica de Saúde Bucal e Sistêmica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, Brasil. Os pacientes preencheram um questionário completo sobre a sua saúde geral e bucal. Todos os pacientes foram individualmente informados sobre a natureza do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Humanos, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba.

Os critérios de inclusão do estudo foram os seguintes: pacientes de ambos os sexos com idade entre ≥ 30 e ≤ 70 anos;[25] diagnóstico de periodontite estágio III e IV Grau C;[1] que tenham realizado tratamento periodontal no período máximo de 3 meses com no mínimo 4

sítios com PS ≥4mm^2 [64] com SS; pacientes diagnosticados com DM2 (HbA1c ≥ 7,0%); apresentar no mínimo 15 dentes, excluindo os terceiros molares.

Os critérios de exclusão foram: fumantes ou ex-fumantes há mais de 5 anos; pacientes com anemia; paciente com câncer ativo e histórico de quimioterapia; história de antibioticoterapia nos 6 meses anteriores; história de terapia com anti-inflamatório nos últimos 6 meses; paciente com desordens sanguíneas; gravidez; paciente em tratamento ortodôntico[17] e pacientes que necessitam de antibioticoterapia profilática.[24]

Além do diagnóstico médico de DM2, todos os pacientes realizaram exame de hemoglobina glicada e glicemia em jejum em laboratório de análises clínicas terceirizado, previamente ao início do tratamento, para confirmação dos níveis de HbA1c ≥ 7,0 %, para serem incluídos no estudo.

1.3.4 Calibração do examinador

Previamente às avaliações clínicas periodontais, foram realizados os procedimentos de calibração de um examinador cego aos tratamentos efetuados nos respectivos pacientes. Para tanto, 10 indivíduos foram examinados duas vezes, com uma semana de diferença entre os exames. Foram realizadas análises de PS e NIC em seis sítios por dente e os dados foram submetidos ao teste Kappa. Foi verificado o valor de 0,87 no teste Kappa, certificando concondância intra examinador.[25]

1.3.5 Desenho experimental e tratamento

Os cinquenta e um pacientes com periodontite e DM2 não compensada (HbA1c ≥ 7,0%) que estavam em terapia de manutenção periodontal foram selecionados. Após a inclusão no estudo, todos os participantes receberam informações detalhadas sobre a etiologia da doença periodontal, sobre a relação bidirecional entre DM2 e periodontite e reinstrução de higiene bucal individualizada. Para que os pacientes estivessem instalados em um protocolo de terapia de manutenção, todos receberam inicialmente RAR e após 60 dias foram distribuídos em um dos 3 grupos para tratamento das bolsas residuais. Os pacientes foram alocados em um dos grupos de tratamento utilizando um sistema de aleatorização

online *(www.sealedenvelope.com),* sendo enumerado um envelope pardo para cada paciente, onde continha a informação sobre qual grupo o mesmo pertenceria. Todos os sítios com PS≥ 4mm e SS foram designados a receber um dos tratamentos, de acordo com o grupo ao qual o paciente pertencia: Grupo RAR (n=17) - raspagem e aplainamento radicular (RAR) em uma única sessão com ultrassom* e curetas Gracey† ; Grupo BM (n=17) - RAR em sessão única seguida da aplicação tópica no interior da bolsa periodontal com o gel de liberação de oxigênio ativo‡ (quantidade de 0,4mL) durante 3 minutos logo após a RAR[20]; Grupo BM+aPDT (n=17) - RAR em sessão única, seguida da aplicação local do gel de liberação de oxigênio ativo‡ (quantidade de 0,4mL) durante 3 minutos, seguida de irrigação da bolsa com azul de metileno§ (100 µg/mL) e após 60 segundos irradiação com laser de diodo de *Alumínio Gálio Índio Fósforo‖ (AlGaInP*; 660 ± 10 nm) durante 60 segundos, totalizando 166 J/cm², energia de 5 J, com potência de 100 mW (comprovada por medidor de potência)¶ e fibra óptica com diâmetro de saída de 0,03 cm². [25] A fibra do laser foi introduzida no interior da bolsa periodontal e posicionada paralelamente ao longo eixo do dente.[17,25,26]

Os procedimentos clínicos, coleta microbiológica, imunológica e tratamento de RAR de todos os grupos foram realizados por um operador (M.M.C), enquanto que os tratamentos coadjuvantes foram realizados por um segundo operador (J.V.R.S.). Após a RAR, os envelopes que continham o grupo ao qual o paciente pertencia eram abertos e então o segundo operador, realizava o tratamento especificado.

Os pacientes foram chamados uma semana após o procedimento para avaliação do tratamento periodontal, onde foi realizada inspeção clínica dos tecidos periodontais, para verificação de possível presença de abscessos periodontais, eritema, edema, descamação gengival, prurido, presença de sensibilidade e aumento de mobilidade dentária, relacionados à terapia. Quaisquer relatos dos pacientes após o tratamento foram anotados nas fichas nesta sessão.

1.3.6 Desfechos clínicos primário e secundários

Os parâmetros clínicos periodontais de ganho de NIC e redução do número de bolsas periodontais foram considerados como desfecho primário deste estudo. Já os desfechos secundários foram: número de dentes; PS, SS [27] em todos os seis sítios dos dentes na

cavidade oral, excluindo os terceiros molares; índice de placa (IP), considerando 4 sítios dos dentes na cavidade bucal; bolsas residuais, sendo elas sítios com PS ≥5mm e SS;[28] quantificação de *P. intermedia* e *P. gingivalis*, níveis de marcadores imuno-inflamatórios IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-α e INF-ɣ níveis de hemoglobina glicada (HbA1c). Todos estes parâmetros clínicos foram realizados com sonda periodontal milimetrada# e anotados. Todos os exames clínicos foram realizados por um único examinador previamente calibrado[23] e cego ao estudo, no *baseline*, 90 e 180 dias após os tratamentos.

1.3.7 Coleta microbiológica

Foram coletadas amostras de biofilme subgengival de duas bolsas com PS ≥ 4 mm com SS no *baseline*, aos 90 e 180 dias no pós-tratamento, as quais receberam um dos três tratamentos propostos. Para a coleta nos sítios experimentais foi removido o biofilme supragengival, seguido de irrigação leve, secagem e isolamento relativo com rolete de algodão. Cones de papel absorventes estéreis (# 30)** foram introduzidos no sulco gengival, em direção apical até que uma leve resistência fosse sentida, permanecendo no local por 30 segundos.[29] A partir da inserção de 2 cones de papel no sulco gengival dos pacientes submetidos aos tratamentos propostos, foram obtidas amostras de biofilme, sendo inseridas em microtubos seco e congeladas a -80^{o}C.

1.3.8 Coleta do fluido gengival para análise de marcadores imunoinflamatórios

A coleta do fluido crevicular gengival de todos os indivíduos envolvidos na pesquisa foi realizada da mesma forma que a coleta microbiológica, sendo que os cones de papéis coletados inicialmente, foram separados para a análise imunológica. Após remoção da porção supragengival do biofilme, foram introduzidos 2 cones de papéis (# 30)** no interior da interface dente/tecidos periodontais e mantidos durante 30 segundos. Os cones de papéis foram, então, colocados em *eppendorfs* secos, codificados para cada um dos indivíduos e períodos experimentais estocadas em freezer -80 C para posterior análise.[30]

1.3.9 Análise dos resultados

1.3.9.1 Análise clínica

Após a tabulação dos periogramas, foram obtidas porcentagens de sítios com PS categorizados em PS ≤ 3mm e PS ≥ 4mm e NIC categorizados em NIC ≤ 3mm, NIC = 4-5mm e NIC ≥ 6mm. Os dados categóricos de IP e SS de boca toda foram transformados em porcentagens.[29] A enumeração de bolsas residuais com PS ≥ 5 mm e SS por paciente foi avaliada em cada tratamento e período, por representar a extensão e o grau de sucesso do tratamento periodontal realizado.[31] Aos 90 e 180 dias após o tratamento foi determinado o número de pacientes que atingiram o *endpoint* com ≤ 4 sítios com PS ≥ 5mm após o tratamento.[12]

1.3.9.2 Análise glicêmica

Amostras de sangue periférico foram coletadas para análise dos níveis de HbA1c por laboratório de análises clínicas especializado e padronizado, antes do tratamento e aos 180 dias após o tratamento.

1.3.9.3 Análise e processamento microbiológico

As amostras foram submetidas à extração do DNA genômico, utilizando o protocolo de fenol-clorofórmio[32] e ressuspenso em tampão TE com 10µg/mL de RNAse. O DNA foi quantificado e ajustado para uma concentração de 20 ng/mL usando um espectrofotômetro de 260 nm.[32] Os microrganismos *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) foram quantificados, utilizando primers e condições de reações específicos. Foi utilizado Sistema de PCR em tempo real (Illumina Eco TM 48 Real Time PCR System)††, sendo a mistura de reação do PCR composta por 5 µl de qPCR Green Master Eva Fast Green‡‡, 0,6 µl de primers misturados, 3,5 µl de água deionizada e 1 µl de DNA. As curvas padrão e os limiares de ciclo foram gerados à partir de diluições em série de DNA de cepas ATCC padrão. Após o ciclo final, a análise da temperatura de fusão foi realizada em todas as amostras amplificadas. Os resultados foram normalizados contra o gene 16S rRNA, que representou o DNA bacteriano total, como contagem (ng/mL).[26] As análises

microbiológicas foram conduzidas por um examinador cego ao exame clínico e à alocação dos pacientes nos grupos (M.M.C.).

1.3.9.4 Análise e processamento imunológico

Alíquotas de cada amostra de fluido gengival foram submetidas a análises para detecção de IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-α e INF-ɣ pela tecnologia Luminex/MAGpix, a qual permite determinar a presença e quantificar de forma absoluta a concentração de diferentes marcadores em uma mesma amostra. Para tanto, as análises foram realizadas em placas de 96 poços, com o auxílio de painéis de alta sensibilidade§§, seguindo as instruções do fabricante. Brevemente, os poços foram lavados com tampão de lavagem e aspirados. Microesferas exclusivas conjugadas a anticorpos monoclonais contra os diferentes analíticos a serem analisados foram adicionadas nos poços. Amostras e reagentes para a curva padrão foram pipetados nos poços e incubados overnight a 4^{o}C. Os poços foram, então, lavados e uma mistura de anticorpos secundários foi adicionada. Após a incubação por 1 hora, a detecção final foi feita através de um terceiro marcador fluorescente, Estreptavidina-Ficoeritrina (PE) ligada ao anticorpo de detecção. O equipamento Luminex/MAGpix movimentou estas esferas em fila única através de feixes de dois lasers diferentes em um citômetro de fluxo. A concentração de cada analítico foi expressa em pg/mL. Amostras com quantificação abaixo do limite de detecção da análise foram registradas como “zero” e amostras acima do limite de quantificação da curva padrão foram registradas com valor igual ao maior valor da curva. As análises dos imunomarcadores foram conduzidas por um examinador cego ao exame clínico e à alocação dos pacientes nos grupos (R.V.C.).

1.3.10 Análise estatística

Os dados clínicos periodontais, imunológicos e microbiológicos foram apresentados através de média (desvio padrão) e a análise intra-grupo ao longo do tempo (*Baseline*, 90 e 180 dias) foi determinada pelo teste de Friedman e Dunn (parâmetros clínicos) e teste Wilcoxon para HbA1c. A análise entre os grupos foi realizada através do teste KrusKal-Wallis para parâmetros clínicos periodontais e HbA1c. As análises inter-grupos e intragrupo para o parâmetro de bolsas residuais (PS>4mm com SS) foi executada através do teste de ANOVA

(um critério). As diferenças nos percentuais de homens e mulheres e de indivíduos que alcançaram o *endpoint* clínico para o tratamento (≤4 sítios periodontais com PS ≥ 5 mm) foram avaliados pelo Teste Exato Qui-quadrado. A comparação de idade dos pacientes foi realizada através do teste de ANOVA (um critério). Para análise da normalidade de todas as variáveis, o teste Kolmogorov-Smirnov foi aplicado. Os dados foram analisados através do programa estatístico|||| sendo considerado o nível de significância 5% ($p<0,05$).

1.4 Resultados

Todos os 51 pacientes selecionados foram submetidos aos tratamentos propostos, sendo 56,7% mulheres e 43,3% homens, entre 41 e 68 anos. Destes, não foram reavaliados 6 pacientes aos 180 dias, pelo fato de 3 pacientes terem tomado antibiótico e 3 pacientes não compareceram para reavaliação, sendo incluídos 15 pacientes por grupo para a análise (Figura 1). Não foram detectadas diferenças entre os grupos nos dados demográficos (idade e sexo) e nenhum paciente reportou efeito adverso após o tratamento (Tabela 1).

1.4.1 Achados clínicos

Os grupos apresentaram média de HbA1c superior a 8% no baseline (Tabela 1). O grupo BM apresentou redução significante nos níveis de HbA1c aos 180 dias após o tratamento ($p<0,05$) (Tabela 1).

Na análise intergrupo não foram detectadas diferença estatisticamente significantes entre os grupos em todos os parâmetros clínicos periodontais no *baseline,* 90 e 180 dias após o tratamento ($p> 0,05$) (Tabela 2). Na análise intragrupo o IP apresentou redução estatisticamente significante aos 90 dias no grupo BM+aPDT ($p=0,04$) e aos 180 dias no grupo RAR ($p=0,04$), quando comparado com o *baseline* (Tabela 2). Com relação aos dados de SS, apenas o grupo BM+aPDT apresentou redução estatisticamente significante em ambos os períodos pós-operatórios, quando comparado com o *baseline* (90 dias, $p=0,03$; 180 dias, $p=0,01$) (Tabela 2). A porcentagem de sítios com PS ≥ 4mm apresentou redução estatisticamente significante aos 90 dias no grupo BM+aPDT e em ambos os períodos pós tratamento no grupo BM, comparados ao *baseline* ($p= 0,0243$) (Tabela 2). Além disso, o grupo BM+aPDT apresentou redução estatisticamente significante na porcentagem de bolsas residuais aos 180 dias, quando comparado com *baseline* ($p=0,0411$) (Tabela 2).

Na tabela 3 é possível observar a média bolsas periodontais (PS ≥4mm) e médias de NIC das bolsas tratadas no *baseline*. Foi verificada redução estatisticamente significante na PS aos 90 dias ($p=0,0022$, $p=0,0005$; $p=0,0005$) e 180 dias após o tratamento, no grupo RAR, BM e BM+aPDT ($p=0,0022$; $p=0,0078$, $p=0,0411$) (Tabela 3). Da mesma forma, houve ganho de inserção clínica nos 3 grupos avaliados, aos 90 ($p=0,0042$, $p=0,0003$; $p=0,0105$) e 180 dias ($p=0,0318$; $p=0,0078$, $p=0,0411$) após o tratamento, comparado com o *baseline* (Tabela 3).

Com relação ao alcance do *endpoint* clínico[12] (Tabela 4), aos 90 dias após o tratamento, 40 % dos pacientes do grupo RAR alcançaram ≤ 4 sítios com PS ≥ 5mm, enquanto que no grupo BM+aPDT esse percentual foi de 53,3% e no grupo BM foi de 60,0%. Aos 180 dias após o tratamento o grupo RAR e BM apresentaram 53,3% dos pacientes com ≤ 4 sítios com PS ≥ 5mm e no grupo BM+aPDT 46,67% obtiveram o êxito (Tabela 4).

1.4.2 Achados imunológicos e microbiológicos

Na avaliação intergrupo da análise imunológica, não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos nos 3 períodos de avaliação (p>0,05). Entretanto, na análise intragrupo houve redução estatisticamente significante nos níveis de TNF-α no grupo BM+aPDT apenas aos 90 dias após o tratamento periodontal (p= 0,03) (Tabela 5).

Com relação aos achados microbiológicos, nenhuma diferença estatisticamente significante foi verificada entre os grupos de tratamentos no baseline, 90 e 180 dias (p>0,05) (Tabela 6). Além disso, não foram detectadas diferenças intragrupo nos períodos avaliados (p>0,05) (Tabela 6).

1.5 Discussão

Este estudo clínico controlado randomizado propôs o uso de terapias locais coadjuvantes ao tratamento periodontal não cirúrgico em bolsas periodontais residuais de pacientes diabéticos descompensados com periodontite, visando a não resistência bacteriana. Dentre as terapias, o uso do gel de liberação de oxigênio ativo isolado como terapia periodontal coadjuvante foi capaz de reduzir a porcentagem de sítios com PS≥4mm aos 90 e 180 dias após o tratamento, redução na HbA1c e de bolsas residuais periodontais aos 180 dias. Já a associação do gel de liberação de oxigênio ativo com a aPDT, resultou em redução do número de sítios com PS≥4mm e níveis de TNF-α aos 90 dias após o tratamento, sendo também capaz de reduzir SS e o número de bolsas residuais aos 90 e 180 dias de acompanhamento.

Poucos estudos tem avaliado o efeito da terapia de manutenção periodontal em pacientes diabéticos.[33-36] Dentre as condutas, tem sido avaliadas terapias coadjuvantes como uso de antibiótico local,[33] comparação entre tratamento cirúrgico e não cirúrgico[34] e terapia fotodinâmica antimicrobiana.[35]

O gel de liberação de oxigênio ativo utilizado apresenta em sua composição perborato de sódio, lactoferrina, enzima oxidase glicose derivada de mel e xilitol.[36] Dentre as funções do oxigênio, podem ser citadas funções vitais no metabolismo celular, como geração de energia, reepitelização, angiogênese, síntese de colágeno, além de também promover a morte bacteriana através de oxidação.[37] Dessa forma, com a entrega de 0,015% de O^2 nos tecidos, o gel pode auxiliar no processo de morte celular bacteriana e reparo tecidual, promovendo angiogênese e o desenvolvimento da matriz extracelular, aumentando proliferação de fibroblastos e macrófagos.[36]Estas funções podem ter influenciado na redução das bolsas periodontais tanto no período de 90 dias, quanto aos 180 dias pós tratamento, frente à remissão da doença periodontal.

No grupo BM também observou-se redução de 0,4% de HbA1c aos 180 dias. A periodontite tende a prejudicar o controle glicêmico de indivíduos com DM2, ao passo que o tratamento periodontal pode melhorar o controle glicêmico em pacientes com DM2.[37] Tais fatos podem ser justificados pois o tratamento periodontal bem sucedido resulta na redução da inflamação do tecidos periodontais e sistêmica, melhorando o controle metabólico.[38]

Estudo aponta uma redução média de 0,36% da HbA1c aos 3 meses pós tratamento, estimando que esta redução obtida em um curto período de tempo seria equivalente ao uso de um segundo medicamento para o tratamento da hiperglicemia.[7] Reduções de HbA1c sustentadas a um maior tempo após o tratamento periodontal não cirúrgico, podem contribuir para redução de mortalidade e morbidade.[7]

Frente ao SS, somente o grupo BM+aPDT apresentou redução significante aos 90 e 180 dias, assim como achados prévios de outro estudo que também verificou redução significante do SS com uso de aPDT em bolsas residuais de pacientes com DM2.[35] Quando analisado o uso da aPDT no tratamento da periodontite em pacientes não diabéticos, alguns estudos apontam redução do SS aos 90 dias e 180 dias,[24] enquanto que outros estudos observaram esta redução somente em 90 dias[11] ou somente em 180 dias[40] pós tratamento .

A aPDT tem sido proposta no tratamento de infecções, dentre elas a periodontite.[41] Seu princípio básico é a combinação de luz visível ou próxima de infravermelho, oxigênio e um fotoantimicrobiano que seja capaz de absorver e transferir energia ou elétrons após absorção de luz ao oxigênio molecular para a geração de espécies reativas de oxigênio, as quais são tóxicas para microrganismos periodontopatogênicos.[42] No protocolo utilizado neste estudo, foi selecionado como fotoantimicrobiano o azul de metileno na concentração de 100 µg/mL e o laser de diodo de *Alumínio Gálio Índio Fósforo (*AlGaInP; 660 ± 10 nm). O tempo de pré-irradiação e de irradiação foi de 60 segundos, totalizando 166 J/cm², energia de 5 J, com potência de 100 mW sendo utilizada fibra óptica posicionada no interior da bolsa periodontal com diâmetro de saída de 0,03 cm².[25] A utilização do BM previamente a aPDT é justificada pela possibilidade de aumentar a liberação de oxigênio ativo em áreas mais profundas do interior da bolsa periodontal, o que poderia favorecer o processo da aPDT por aumentar a concentração do oxigênio e aumentar a formação de espécies reativas de oxigênio nos tecidos periodontais.

O uso coadjuvante da aPDT no tratamento da periodontite e em bolsas residuais tem sido investigado, uma vez que esta terapia é indolor, local e tem pouco potencial em desenvolver resistência microbiana.[42] A resistência bacteriana é uma das preocupações mundiais, uma vez que, infecções causadas por bactérias resistentes a antibióticos, estão entre as principais causas de morte para pessoas de todas as idades atualmente.[43] Até o presente momento, os resultados obtidos pelos estudos clínicos apresentam-se

contraditórios. Alguns estudos demonstram benefícios clínicos em PS, NIC e SS,[30,44,45] enquanto que outros autores, não puderam sustentar tais achados.[46,47] Quando analisada a eficácia da aPDT no tratamento de bolsas residuais de pacientes sistemicamente saudáveis, estudos apontam melhora nos parâmetros clínicos de SS, PS e NIC, quando comparados com a RAR isolada.[41,45] Entretanto, outros autores não sustentam tais achados, pois não demonstraram melhoras significantes na associação da aPDT quando comparado com a RAR isolada.[47]

Além da análise de bolsas residuais, foi determinada a porcentagem de pacientes que atingiram o *endpoint* clínico, sendo estabelecido como a presença de ≤4 sítios com PS≥5mm após o tratamento.[12] Aos 90 dias, 60% dos pacientes do grupo BM alcançaram o *endpoint*, enquanto que no grupo BM+aPDT esse percentual foi de 53,3% e no grupo RAR 40%. Já aos 180 dias, 53,3% dos pacientes dos grupos RAR e BM atingiram o *endpoint*, enquanto que no grupo BM+aPDT essa porcentagem foi de 46,67%. Aos 90 dias pós tratamento, os grupo onde foram associadas terapias coadjuvantes, obtiveram mais de 50% de alcance do *endpoint* clínico. Aos 180 dias após o tratamento, houve uma redução desse percentual, demonstrando a necessidade dos pacientes com DM2 serem mantidos em terapia de manutenção, para o controle da taxa de progressão da periodontite e redução de possível perda dental.[48]

Os pacientes selecionados para este estudo eram diabéticos tipo 2 descompensados, sendo que a média de HbA1c nos grupos BM+aPDT e BM, apresentou-se superior a 8,0%, caracterizado como um pobre controle glicêmico, sendo um agravante para o sucesso do tratamento periodontal.[10] DM2 descompensada está associada a uma menor melhora dos parâmetros clínicos periodontais após tratamento periodontal, quando comparados com diabéticos bem controlados ou não diabéticos.[49]

Estudos apontam que há uma alteração nas interações subgengivais hospedeiro-microbianas, sendo que após o tratamento periodontal não cirúrgico, a restauração do sistema imunológico na determinação da colonização bacteriana é menor e mais atrasada na hiperglicemia.[50] A hiperglicemia também leva a interações de AGE-RAGE que modificam macrófagos em células hiperativas, aumentando a produção de citocinas proinflamatórias.[51] No paciente diabético, em especial no diabético descompensado, há um perfil hiper pró-inflamatório.[52] Citocinas próinflamatórias como IL-1β, IL-6, IL-17, IL-23, apresentam-se em

maiores quantidades neste perfil de paciente.[9,52] Esse aumento de marcadores inflamatórios sistêmicos é acompanhado por um ambiente pró-inflamatório na região gengival, o qual resulta em desequilíbrio entre a produção de metaloproteinases e seus inibidores.[9]

No presente estudo, a redução de TNF-α foi significativa no grupo BM+aPDT 90 dias após o tratamento. Esta citocina pró-inflamatória atua em diversas funções como na produção de prostaglandina, proteases, estimulando a reabsorção óssea, desempenhando um importante papel na resposta imuno-inflamatória, desencadeada por infecções.[53] Apresenta-se como um importante mediador da inflamação e quando expresso em níveis elevados, pode estimular o desenvolvimento de inflamações crônicas.[52] Nossos achados são corroborados com resultado de outro estudo clínico randomizado em pacientes sistemicamente saudáveis, que comparou a eficácia da aPDT com raspagem em campo aberto no tratamento de bolsas residuais e que também observou redução significante nos níveis de TNF-α nos pacientes tratados com aPDT.[54]

A colonização subgengival por microrganismos em indivíduos hiperglicêmicos, apresentam diferenças em sua constituição, quando comparados a indivíduos normoglicêmicos.[50] Sabe-se que bactérias orais apresentam um papel pivô na etiologia da periodontite.[55] Dentre os periodontopatógenos, foram selecionados neste estudo para avaliação a *P. gingivalis* e a *P. intermedia*. Estas bactérias são consideradas periodontopatógenos, sendo a *P. gingivalis* incluída no complexo vermelho e a *P. intermedia* no complexo laranja.[56] A *P. gingivalis* apresenta características de virulência que afetam de forma sistêmica o indivíduo, sendo capaz de desencadear respostas imuno-inflamatórias de forma direta e indireta em várias partes do organismo.[57] Após os protocolos de tratamento das bolsas residuais propostas neste estudo, não foram verificadas diferenças significantes nos períodos de reavaliação. Estudo clinico recente, que avaliou a eficácia da aPDT como tratamento coadjuvante, comparado a raspagem em campo aberto em bolsas residuais[54] evidenciaram redução de *P. gingivalis* com o uso da aPDT. Entretanto, a aPDT não foi capaz de reduzir *A. actinomycetemcomitans.*[54] Embora a terapia periodontal não cirúrgica não seja capaz de alterar consistentemente a quantidade microbiana,[58] ela reinicia a interação entre o microbioma recém formado e o sistema imuno-inflamatório, restaurando o sistema imunológico na determinação da colonização bacteriana.[50] No entanto, quando encontrado

um estado de hiperglicemia, como o apresentado pelos pacientes deste estudo clínico, este resultado é reduzido e mais lento.[59]

Recente estudo *in vitro* comparou a ação do gel de liberação de oxigênio ativo com clorexidina em biofilme.[22] No estudo *in vitro* foram verificadas reduções significativas de bactérias do complexo vermelho como *P. gingivalis* e *Tannarella forsythia* e *P. intermedia* e *E. nodatum* do complexo laranja, demonstrando sua efetividade contra bactéria anaeróbias gram negativas.[56]

Dentre as limitações do estudo, podemos relatar que seu desenvolvimento ocorreu durante a pandemia da Covid 19, o que pode ter influenciado de forma significante no controle da glicemia dos pacientes diabéticos, frente aos efeitos do stress, de alterações de hábitos de alimentação e da dieta, uso de medicamentos, falta de controle médico, além do aumento do sedentarismo.[60] Além disso, a falta de estudos a respeito do gel de liberação de oxigênio ativo também se faz uma limitação.

Além disso, é importante enfatizar que este é o primeiro estudo clínico randomizado que avalia a ação do gel de liberação de oxigênio ativo associado à aPDT no tratamento de bolsas residuais de pacientes com DM2. Questões a respeito destas terapias coadjuvantes sobre outras bactérias e outras citocinas anti e pró-inflamatórias, variações no protocolo da aPDT, comparação com outras terapias, ainda precisam ser elucidadas. Assim, mais estudos controlados randomizados devem ser realizados, a fim de elucidar essas questões, uma vez que o desenvolvimento de protocolos de terapias coadjuvantes deve ser muito importante para minimizar os efeitos deletérios da DM2 não compensada. Dentro das perspectivas futuras, o desenvolvimento de novos fotoantimicrobianos e o estabelecimento de novos protocolos de aPDT devem ser realizados na tentativa de alcançar o sucesso desta terapia como coadjuvante oa tratamento periodontal, já que alguns resultados mostram-se promissores.

1.6 Conclusão

Dentro das limitações deste estudo, conclui-se que o uso do gel de liberação de oxigênio ativo associado ou não a aPDT promoveu benefícios clínicos adicionais no tratamento de bolsas residuais em indivíduos com DM2.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES #001). Os autores agradecem o Programa CAPES/Print (Processo 88887.310463/2018-00). A empresa blue®m patrocinou também parte do desenvolvimento desta pesquisa. Agradecimentos ao professor Mark Wainright, da Liverpool John Moores University, pelo auxílio no projeto de pesquisa, ao Centro de Assitência Odontológica à pessoas com deficiência, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, onde a pesquisa foi desenvolvida e à Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, na pessoa do professor Renato Corrêa Viana Casarin, pelo processamento imunológico das amostras.

Conflito de interesse: Não há conflito de interesse relacionado com este estudo.

Footnotes

* Profi Neo, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil.
† Hu-Friedy, IL, EUA
‡ blue®m, Groteweg, Wapenveld, The Netherlands.
§ Apothicário Farmácia de Manipulação, Araçatuba, SP, Brasil.
‖ Duo, MM Optics, Ltda, São Carlos, SP, Brasil
¶ Laser Check, MM Optics, Ltda, São Carlos, SP, Brasil
# PCPUNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA
**Tanari, Manacapuru, AM, Brasil
††Illumina Biosystems, San Diego, CA, EUA
‡‡Cellco, Ribeirão Preto, SP, Brasil
§§ Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA
‖‖‖ GraphPad Prism versão 8.3.4, San Diego, CA, EUA.

1.7 Referências

1. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89 Suppl 1:S173-S182. doi:10.1002/JPER.17-0721

2. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The nexus between periodontal inflammation and dysbiosis. *Front Immunol*. 2020;11:511. doi:10.3389/fimmu.2020.00511

3. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, et al. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline [published correction appears in *J Clin Periodontol.* 2021 Jan;48(1):163]. *J Clin Periodontol.* 2020;47 Suppl 22(Suppl 22):4-60. doi:10.1111/jcpe.13290

4. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018;89 Suppl 1:S237-S248. doi:10.1002/JPER.17-0733

5. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018;138:271-281. doi:10.1016/j.diabres.2018.02.023.

6. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(2):88-98. doi:10.1038/nrendo.2017.151

7. Chapple IL, Genco R; Working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol.* 2013;84(4 Suppl):S106-S112. doi:10.1902/jop.2013.1340011

8. Graves DT, Ding Z, Yang Y. The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2020;82(1):214-224. doi:10.1111/prd.12318

9. Kocher T, König J, Borgnakke WS, Pink C, Meisel P. Periodontal complications of

hyperglycemia/diabetes mellitus: Epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontol 2000*. 2018;78(1):59-97. doi:10.1111/prd.12235

10. Hsu YT, Nair M, Angelov N, Lalla E, Lee CT. Impact of diabetes on clinical periodontal outcomes following non-surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2019;46(2):206-217. doi:10.1111/jcpe.13044
11. Corrêa MG, Oliveira DH, Saraceni CH, et al. Short-term microbiological effects of photodynamic therapy in non-surgical periodontal treatment of residual pockets: a split-mouth RCT. *Lasers Surg Med*. 2016;48(10):944-950. doi:10.1002/lsm.22449
12. Feres M, Retamal-Valdes B, Faveri M, et al. Proposal of a clinical endpoint for periodontal trials: the treat-to-target approach. *J Int Acad Periodontol*. 2020;22(2):41-53.
13. Graves DT, Liu R, Alikhani M, Al-Mashat H, Trackman PC. Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis--impact on periodontal pathology. *J Dent Res*. 2006;85(1):15-21. doi:10.1177/154405910608500103
14. Mielczarek-Badora E, Szulc M. Photodynamic therapy and its role in periodontitis treatment. *Postepy Hig Med Dosw*. 2013;67:1058-1065. doi:10.5604/17322693.1075915
15. Macdonald IJ, Dougherty TJ. Basic principles of photodynamic therapy. J. Porphyrins Phthalocyanines. 2001;5:105–129. doi:10.1002/jpp.328
16. Moslemi N, Heidari M, Bouraima SA. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunctive modality in the treatment of chronic periodontitis. *J Lasers Med Sci.* 2012;3(4):141-146.
17. Theodoro LH, Lopes AB, Nuernberg MAA, et al. Comparison of repeated applications of aPDT with amoxicillin and metronidazole in the treatment of chronic periodontitis: a short-term study. *J Photochem Photobiol B*. 2017;174:364-369. doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.08.012
18. Putt MS, Proskin HM. Custom tray application of peroxide gel as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of periodontitis: results of a randomized controlled trial after six months. *J Clin Dent*. 2013;24(3):100-107.

19. Niveda R, Gurumoorthy K. Effect of oxygen releasing oral gel compared to chlorhexidine gel in the treatment of periodontitis. J Pharmac Res Inter. 2020;32(19):75-82. doi:10.9734/jpri/2020/v32i1930711

20. Garcez AS, Hamblin MR. Methylene blue and hydrogen peroxide for photodynamic inactivation in root canal: a new protocol for use in endodontics. *Eur Endod J*. 2017;2(1):29. doi:10.14744/eej.2017.17023

21. Grootveld M, Lynch E, Page G, et al. Potential Advantages of Peroxoborates and Their Ester Adducts Over Hydrogen Peroxide as Therapeutic Agents in Oral Healthcare Products: Chemical/Biochemical Reactivity Considerations *In Vitro, Ex Vivo And In Vivo. Dent J (Basel).* 2020;8(3):89. doi:10.3390/dj8030089

22. Shibli JA, Rocha TF, Coelho F, et al. Metabolic activity of hydro-carbon-oxo-borate on a multispecies subgingival periodontal biofilm: a short communication. *Clin Oral Investig*. 2021;25(10):5945-5953. doi:10.1007/s00784-021-03900-0

23. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Int J Surg*. 2012;10(1):28-55. doi:10.1016/j.ijsu.2011.10.001

24. Carvalho VF, Andrade PV, Rodrigues MF, et al. Antimicrobial photodynamic effect to treat residual pockets in periodontal patients: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2015;42(5):440-447. doi:10.1111/jcpe.12393

25. Cláudio MM, Nuernberg MAA, Rodrigues JVS, et al. Effects of multiple sessions of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in the treatment of periodontitis in patients with uncompensated type 2 diabetes: a randomized controlled clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021;35:102451. doi:10.1016/j.pdpdt.2021.102451

26. Theodoro LH, Assem NZ, Longo M, et al. Treatment of periodontitis in smokers with multiple sessions of antimicrobial photodynamic therapy or systemic antibiotics: A randomized clinical trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;22:217-222. doi:10.1016/j.pdpdt.2018.04.003

27. Holtfreter B, Albandar JM, Dietrich T, et al. Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: Proposed standards

from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. *J Clin Periodontol*. 2015;42(5):407-412. doi:10.1111/jcpe.12392

28. Mombelli A, Almaghlouth A, Cionca N, Courvoisier DS, Giannopoulou C. Differential benefits of amoxicillin-metronidazole in different phases of periodontal therapy in a randomized controlled crossover clinical trial. *J Periodontol*. 2015;86(3):367-375. doi:10.1902/jop.2014.140478

29. Theodoro LH, Silva SP, Pires JR, et al. Clinical and microbiological effects of photodynamic therapy associated with nonsurgical periodontal treatment. A 6-month follow-up. *Lasers Med Sci*. 2012;27(4):687-693. doi:10.1007/s10103-011-0942-x

30. Kolbe MF, Ribeiro FV, Luchesi VH, et al. Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2014;85(8):e277-e286. doi:10.1902/jop.2014.130559

31. Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent*. 2003;1(1):7-16.

32. Sardi JC, Duque C, Camargo GA, Hofling JF, Gonçalves RB. Periodontal conditions and prevalence of putative periodontopathogens and Candida spp. in insulin-dependent type 2 diabetic and non-diabetic patients with chronic periodontitis--a pilot study. *Arch Oral Biol*. 2011;56(10):1098-1105. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.03.017

33. Matsumoto S, Ogawa H, Soda S, et al. Effect of antimicrobial periodontal treatment and maintenance on serum adiponectin in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. 2009;36(2):142-148. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01359.x

34. Mendonça AC, Santos VR, Ribeiro FV, et al. Surgical and non-surgical therapy with systemic antimicrobials for residual pockets in type 2 diabetics with chronic periodontitis: a pilot study. *J Clin Periodontol*. 2012;39(4):368-376. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01860.x

35. Ivanaga CA, Miessi DMJ, Nuernberg MAA, Claudio MM, Garcia VG, Theodoro LH. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin and LED, as an enhancement to scaling and root planing in the treatment of residual pockets in

diabetic patients: a randomized and controlled split-mouth clinical trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;27:388-395. doi:10.1016/j.pdpdt.2019.07.005

36. Deliberador TM, Suyany GW, Rychuv F, et al. Comparative analysis in vitro of the application of blue®m oral gel versus chlorhexidine on porphyromonas gingivalis: a pilot study. *Adv Microbiol*. 2020;10(4):194-201. doi:10.4236/aim.2020.104015
37. Eisenbud DE. Oxygen in wound healing: nutrient, antibiotic, signaling molecule, and therapeutic agent. *Clin Plast Surg*. 2012;39(3):293-310. doi:10.1016/j.cps.2012.05.001
38. Fischer RG, Lira Junior R, Retamal-Valdes B, et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: Treatment of periodontitis. *Braz Oral Res*. 2020;34(supp1 1):e026. doi:10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0026
39. Madianos PN, Koromantzos PA. An update of the evidence on the potential impact of periodontal therapy on diabetes outcomes. *J Clin Periodontol*. 2018;45(2):188-195. doi:10.1111/jcpe.12836
40. Goh EX, Tan KS, Chan YH, Lim LP. Effects of root debridement and adjunctive photodynamic therapy in residual pockets of patients on supportive periodontal therapy: a randomized split-mouth trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;18:342-348. doi:10.1016/j.pdpdt.2017.03.017
41. Sculean A, Deppe H, Miron R, Schwarz F, Romanos G, Cosgarea R. Effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontal and peri-implant diseases. *Monogr Oral Sci*. 2021;29:133-143. doi:10.1159/000510189
42. Wainwright M, Maisch T, Nonell S, et al. Photoantimicrobials-are we afraid of the light? *Lancet Infect Dis*. 2017;17(2):e49-e55. doi:10.1016/S1473-3099(16)30268-7
43. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10325):629-655. doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0
44. Petelin M, Perkič K, Seme K, Gašpirc B. Effect of repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy on subgingival periodontal pathogens in the treatment of chronic periodontitis. *Lasers Med Sci*. 2015;30(6):1647-1656. doi:10.1007/s10103-

014-1632-2

45. Xue D, Zhao Y. Clinical effectiveness of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy for residual pockets during supportive periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2017;17:127-133. doi:10.1016/j.pdpdt.2016.11.011.

46. Franco TPM, Dos Santos APP, Canabarro A. The effects of repeated applications of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of residual periodontal pockets: a systematic review. *Lasers Med Sci*. 2019;34(5):855-863. doi:10.1007/s10103-018-02703-2

47. Trombelli L, Farina R, Pollard A, et al. Efficacy of alternative or additional methods to professional mechanical plaque removal during supportive periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020;47 Suppl 22:144-154. doi:10.1111/jcpe.13269

48. Costa FO, Miranda Cota LO, Pereira Lages EJ, et al. Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *J Periodontol*. 2013;84(5):595-605. doi:10.1902/jop.2012.120255

49. Kaur PK, Narula SC, Rajput R, K Sharma R, Tewari S. Periodontal and glycemic effects of nonsurgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes stratified by baseline HbA1c. *J Oral Sci*. 2015;57(3):201-211. doi:10.2334/josnusd.57.201

50. Kumar PS, Monteiro MF, Dabdoub SM, et al. Subgingival Host-Microbial Interactions in Hyperglycemic Individuals. *J Dent Res*. 2020;99(6):650-657. doi:10.1177/0022034520906842

51. Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol*. 2013;84(4 Suppl):S113-S134. doi:10.1902/jop.2013.134005

52. Vieira Colombo AP, Magalhães CB, Hartenbach FA, Martins do Souto R, Maciel da Silva-Boghossian C. Periodontal-disease-associated biofilm: a reservoir for pathogens of medical importance. *Microb Pathog*. 2016;94:27-34.

doi:10.1016/j.micpath.2015.09.009

53. Martínez-Aguilar VM, Carrillo-Ávila BA, Sauri-Esquivel EA, et al. Quantification of TNF-α in Patients with Periodontitis and Type 2 Diabetes. *Biomed Res Int*. 2019;2019:7984891. doi:10.1155/2019/7984891

54. Andere NMRB, Castro Dos Santos NC, Araújo CF, et al. Open flap debridement compared to repeated applications of photodynamic therapy in the treatment of residual pockets: a randomized clinical trial [published online ahead of print, May 10, 2022]. *J Periodontol*; doi:10.1002/JPER.22-0059

55. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):14-25. doi:10.1111/prd.12296

56. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-144. doi:10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x

57. Mei F, Xie M, Huang X, et al. Porphyromonas gingivalis and Its Systemic Impact: Current Status. *Pathogens.* 2020;9(11):944. doi:10.3390/pathogens9110944

58. Silva-Boghossian CM, Orrico SR, Gonçalves D, Correa FO, Colombo AP. Microbiological changes after periodontal therapy in diabetic patients with inadequate metabolic control. *Braz Oral Res*. 2014;28:S1806-83242014000100222. doi:10.1590/1807-3107bor-2014.vol28.0007

59. Shi B, Lux R, Klokkevold P, et al. The subgingival microbiome associated with periodontitis in type 2 diabetes mellitus. *ISME J*. 2020;14(2):519-530. doi:10.1038/s41396-019-0544-3

60. Munekawa C, Hosomi Y, Hashimoto Y, et al. Effect of coronavirus disease 2019 pandemic on the lifestyle and glycemic control in patients with type 2 diabetes: a cross-section and retrospective cohort study. *Endocr J*. 2021;68(2):201-210. doi:10.1507/endocrj.EJ20-0426

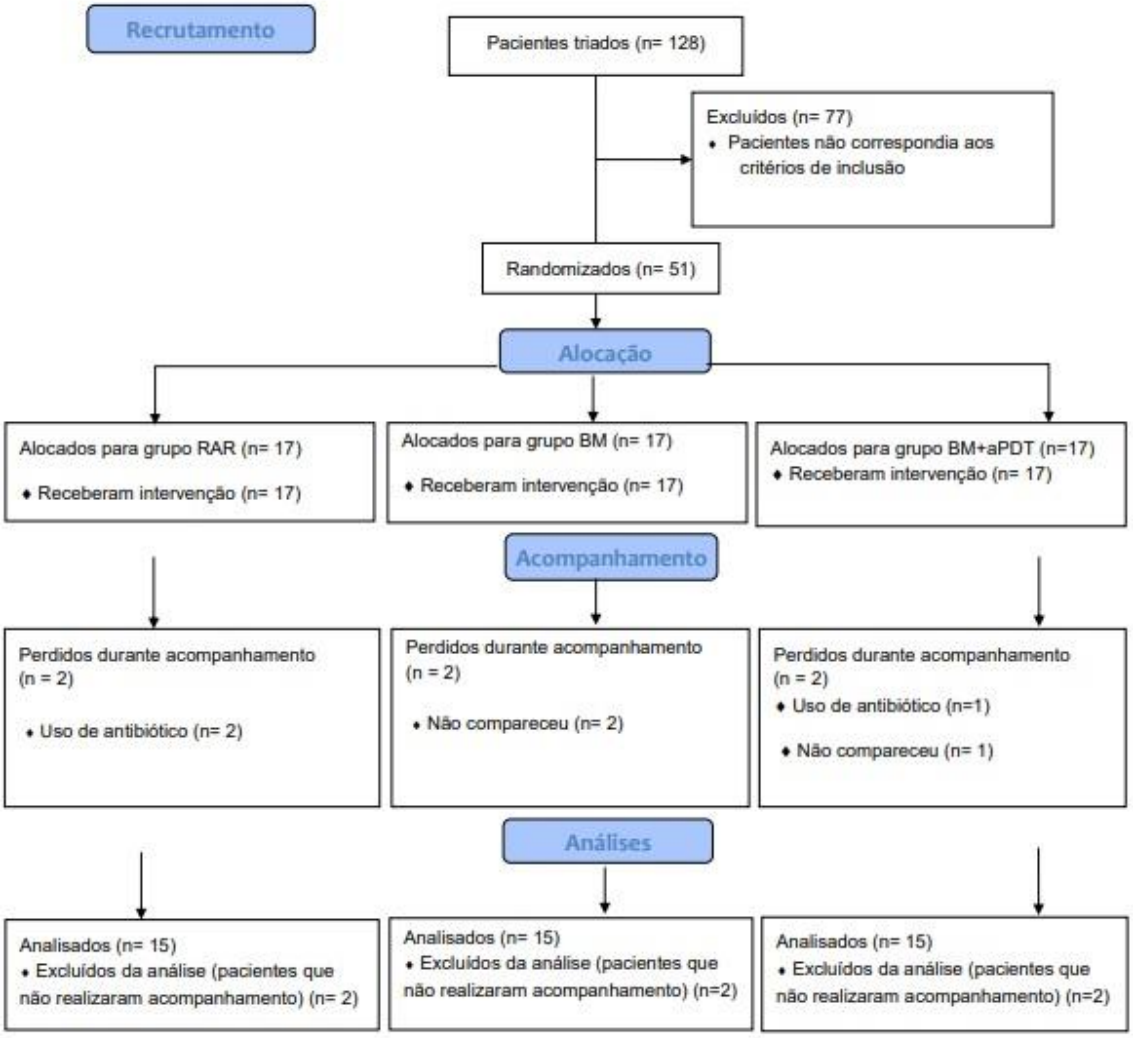

Figura 1 Flowchart do estudo.

Tabela 1 Dados demográficos, média e desvio padrão (M±DP) da Hemoglobina glicada (HbA1c) no *baseline* e aos 180 dias após o tratamento.

Variáveis	RAR n=15	BM n=15	BM+aPDT n=15	p-valor **
Características Demográficas				
Idade, Média (±DP)	57,87 (± 7,03)	56,20 (± 6,85)	53,13 (± 7,00)	0,1805
Sexo, n (%)				
Masculino	7 (46,64)	10 (66,67)	13 (86,67)	0,1011
Feminino	8 (53,33)	5 (33,33)	2 (13,33)	
Dados Bioquímicos, Média (±DP)				
HbA_{1c} (%)				
Baseline	8,23 (± 1,26)	8,91 (± 1,33)	8,89 (±1,23)	0,1745
180 dias	8,17 (± 1,30)	8,49 (±1,40)#	8,56 (±1,16)	0,6180

Legenda: HbA1c: hemoglobina glicada; DP: desvio padrão.

** Valor de p da comparação entre os grupos em cada período de avaliação (teste Kruskal-Wallis).

Diferença estatisticamente significante entre baseline e 180 dias, (p< 0,05; teste Wilxocon).

Tabela 2 Média (desvio padrão) dos parâmetros clínicos periodontais em cada período de avaliação e grupo de tratamento.

Variáveis	RAR n=15	BM n=15	BM+aPDT n=15	p-valor **
Parâmetros Periodontais , Média (±DP)				
Número de dentes				
Baseline	22,27 (±4,06)	21,87 (± 3,98)	24,47 (± 3,07)	0,2111
90 dias	22,0 (± 4,09)	21,67 (± 3,90)	24,2 (± 3,10)	0,2672
180 dias	22,0 (± 3,96)	21,67 (± 3,70)	24,2 (± 3,10)	0,2373
IP (% dos sítios)				
Baseline	34,2 (± 18,25)	30,47 (± 14,73)	36,67 (± 16,06)	0,4648
90 dias	28,13 (± 19,42)	22,67 (± 14,35)	23,8 (± 10,14)*	0,8255
180 dias	19,53 (± 14,01)#	24,33 (± 14,69)	26,47 (± 11,96)	0,30581
SS (% dos sítios)				
Baseline	35,6 (± 20,97)	27,53 (± 10,89)	36,8 (± 10,56)	0,1080
90 dias	23,4 (± 10,62)	20,6 (± 8,11)	22,33 (± 11,64)*	0,7639
180 dias	20,8 (± 12,11)	20,67 (± 11,3)	23,27 (± 12,94)#	0,7820
PS ≤ 3mm (% dos sítios)				
Baseline	79,75 (± 16,32)	82,47 (± 11,38)	80,28 (± 10,8)	0,7983
90 dias	86,84 (± 6,02)	88,83 (± 10,11)*	89,24 (± 6,20)*	0,1988
180 dias	87,2 (± 7,35)	89,73 (± 7,58)#	86,49 (± 7,15)	0,3801
PS ≥ 4mm (% dos sítios)				
Baseline	20,25 (± 16,32)	17,53 (± 11,38)	19,72 (± 10,80)	0,7983
90 dias	13,16 (± 6,02)	11,17 (± 10,11)*	10,76 (± 6,20)*	0,1988
180 dias	12,80 (± 7,35)	10,27 (± 7,58)#	13,51 (± 7,15)	0,3801
NIC ≤ 3mm (% dos sítios)				
Baseline	37,27 (± 13,52)	34,9 (± 15,10)	28,75 (± 15,39)	0,2895
90 dias	39,15 (± 14,76)	40,37 (± 17,24)	31,07 (± 17,88)	0,3756
180 dias	41,21 (± 21,77)	38,49 (±12,3)	31,13 (± 18,98)	0,3601
NIC = 4-5mm (% dos sítios)				
Baseline	43,51 (± 10,61)	46,85 (± 9,79)	49,39 (± 14,83)	0,5067
90 dias	46,24 (± 8,11)	45,61 (± 12,66)	49,44 (± 12,76)	0,6866
180 dias	44,58 (±16,33)	46,90 (± 8,99)	49,25 (± 11,14)	0,8827
NIC ≥ 6mm (% dos sítios)				
Baseline	19,23 (± 17,52)	18,25 (± 17,76)	21,86 (± 22,31)	0,9591
90 dias	14,60 (± 11,19)	14,01 (± 11,37)	19,48 (± 21,45)	0,9692
180 dias	14,19 (± 11,82)	14,6 (± 10,55)	19,61 (± 18,81)	0,8761

PS ≥5mm e SS (% dos sítios)				
Baseline	12,62 (± 10,55)	7,94 (± 4,89)	10,55 (± 6,01)	0,5664
90 dias	11,16 (± 10,25)*	7,80 (± 5,11)	9,36 (±5,85)*	0,5661
180 dias	7,23 (± 5,93)#	6,05 (± 4,47)#	8,83 (± 6,09)#	0,6868

*Diferença estatisticamente significante entre baseline e 90 dias (p< 0,05) teste Friedman.

Diferença estatisticamente significante entre baseline e 180 dias (p< 0,05) teste Friedman.

** Valor de p da comparação entre os grupos em cada período de avaliação (teste Kruskal-Wallis).

Tabela 3 Médias (M ± DP) da bolsas periodontais (PS ≥4mm) e NIC das bolsas tratadas no período inicial, 90 e 180 dias após o tratamento.

Variáveis	RAR n=15	BM n=15	BM+aPDT n=15	p-valor **
PS, Média (DP)				
Baseline	4,81 (± 0,79)	4,70 (± 0,54)	4,47 (± 0,39)	0,4748
90 dias	3,86 (± 1,18)*	3,76 (± 1,0)*	3,54 (± 0,57)*	0,6929
180 dias	3,81 (± 0,93)#	3,87 (± 0,93)#	3,55 (± 0,15)#	0,4618
NIC, Média (DP)				
Baseline	5,59 (± 1,52)	5,52 (± 1,14)	5,04 (±0,92)	0,5483
90 dias	4,71 (±1,83)*	4,49 (±1,47)*	4,19 (±1,10)*	0,6473
180 dias	4,60 (± 1,52)#	4,79 (±1,24)#	4,17 (± 1,04)#	0,4419

** Valor de p da comparação entre os grupos em cada período de avaliação (teste Kruskal-Wallis).

*Diferença estatisticamente significante entre baseline e 90 dias (p< 0,05) teste Friedman.

Diferença estatisticamente significante entre baseline e 180 dias (p< 0,05) teste Friedman.

Tabela 4 Análise do número de pacientes que atingiram o *endpoint* clínico de ≤ 4 sítios com PS ≥ 5mm após o tratamento.

Variáveis	RAR n=15	BM n=15	BM+aPDT n=15	p-valor **
Endpoint, N (%)				
Baseline	0 (100)	0 (100)	0 (100)	1,000
90 dias	6 (40)	9 (60,0)	8 (53,3)	0,5366
180 dias	8 (53,3)	8 (53,3)	7 (46,67)	0,9149

** Valor de p da comparação entre os grupos em cada período de avaliação (teste χ^2).

Tabela 5 Concentração do fluido crevicular gengival (proteína pg/mg) de cada marcador nos grupos RAR, BM e BM+aPDT, no *baseline*, 90 e 180 dias após o tratamento (média ± DP).

Variáveis	RAR n=15	BM n=15	BM+aPDT n=15	p-valor **
IFNɣ				
Baseline	8,03 ± 6,42	9,51 ± 8,63	9,25 ± 4,10	0,7357
90 dias	9,85 ± 6,93	7,60 ± 5,43	8,52 ± 5,08	0,5731
180 dias	7,05 ± 5,79	7,54 ± 4,97	8,81 ± 5,03	0,7844
IL-10				
Baseline	12,49 ± 9,10	13,78 ± 12,79	18,20 ± 12,98	0,5685
90 dias	13,46 ± 9,57	10,34 ± 6,43	12,11 ± 9,03	0,5568
180 dias	12,29 ± 9,70	12,15 ± 6,66	17,24 ± 9,01	0,2835
IL-17				
Baseline	5,13 ± 3,52	5,98 ± 5,19	6,59 ± 4,74	0,8072
90 dias	6,85 ± 4,71	5,74 ± 3,5	6,02 ± 4,01	0,8765
180 dias	5,63 ± 3,72	5,81 ± 3,99	6,04 ± 3,65	0,9148
IL-1β				
Baseline	548,48 ± 823,96	416,09 ± 602,42	387,45 ± 396,92	0,9873
90 dias	373,62 ± 312,15	504,17 ± 668,77	294,72 ± 417,43	0,5063
180 dias	402,33 ± 378,99	441,97 ± 692,92	431,21 ± 530,37	0,9858
IL-4				
Baseline	24,51 ± 24,30	35,41 ± 35,88	38,06 ± 22,85	0,5529
90 dias	37,18 ± 36,13	32,07 ± 25,39	36,48 ± 24,56	0,9143
180 dias	24,37 ± 27,64	26,99 ± 22,32	28,62 ± 28,08	0,9387
IL-6				
Baseline	4,06 ± 4,55	3,60 ± 2,63	7,76 ± 10,06	0,4860
90 dias	3,38 ± 1,49	5,78 ± 11,62	4,76 ± 5,50	0,6213
180 dias	12,72 ± 27,54	5,65 ± 8,44	7,85 ± 12,74	0,8563
TNF-α				
Baseline	11,64 ± 8,08	13,10 ± 14,13	19,95 ± 19,55	0,3772
90 dias	13,85 ± 11,48	10,44 ±9,38	11,95 ± 10,84*	0,7534
180 dias	20,06 ± 19,22	11,79 ± 7,78	17,63 ± 18,88	0,4148

** Valor de p da comparação entre os grupos em cada período de avaliação (teste Kruskal-Wallis).

*Diferença estatisticamente significante entre baseline e 90 dias (p< 0,05) teste Friedman.

Tabela 6 – Média (± DP) dos níveis (ng/ml) de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* no *baseline*, 90 e 180 dias.

Variáveis	**RAR n=15**	**BM n=15**	**BM+aPDT n=15**	**p-valor ****
Porphyromonas gingivalis				
Baseline	0,2391 (±0,58)	1,612 (±3,44)	1,768 (±3,84)	0,8927
90 dias	0,8518 (±1,59)	0,8524 (± 1,24)	0,0823 (±0,127)	0,0942
180 dias	0,00648 (±0,0159)	0,9386(±1,189)	1,098 (±2,65)	0,8746
Prevotella intermedia				
Baseline	0,0128 (±0,022)	0,00 (±0,0)	0,04903 (±0,05)	0,250
90 dias	0,0338 (±0,06)	0,000014 (±0,00002)	0,0254 (±0,0277)	0,1857
180 dias	0,009524 (±0,0165)	0,0000093 (±0,00016)	0,01658 (±0,02872)	0,999

** Valor de p da comparação entre os grupos em cada período de avaliação (teste Kruskal-Wallis).

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da associação entre oxigênio ativo e terapia fotodinâmica no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes diabéticos tipo 2: estudo clínico controlado randomizado

Pesquisador: Leticia Helena Theodoro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 16297119.2.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.573.719

Apresentação do Projeto:

A presente proposta constitui-se em estudo clínico randomizado controlado que avaliará, o efeito do gel de liberação de oxigênio ativo associado ou não à terapia fotodinâmica, como terapia coadjuvante no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes portadores de Diabetes Melito tipo 2 e de periodontite. Cinquenta e um pacientes diabéticos não compensados (HbA1c 7,0 %) com periodontite em terapia de manutenção e com no mínimo 4 bolsas residuais (PS 4 mm) com sangramento à sondagem serão selecionados e separados aleatoriamente em 3 grupos: grupo RAR (n=17) - raspagem e aplainamento radicular (RAR) em uma única sessão e irrigação com solução salina imediatamente após RAR; grupo blue®m (n=17) - RAR em sessão única com aplicação local de blue®m (gel blue®m dosagem de 0,4ml) por 5 minutos seguido da aspiração do gel; grupo blue®m+aPDT (n=17) - RAR em sessão única com aplicação local de blue®m durante 5 minutos e irrigação da bolsa com azul de metileno (100 g/ml) e após 1 minuto irradiação com laser de diodo de Alumínio Gálio Índio Fósforo (AlGaInP, 660±10 nm) durante 50 segundos, totalizando 166 J/cm², energia de 5 J, com potência de 100 mW e fibra óptica com diâmetro de saída de 0,03 cm², imediatamente após RAR. Todas as bolsas residuais (PS 4 mm) com sangramento à sondagem de todos os quadrantes serão tratadas com um dos tratamentos acima

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

propostos de acordo com cada grupo. Os parâmetros clínicos de índice de placa visível, índice gengival, sangramento à sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival, nível de inserção clínica, presença de bolsas residuais e níveis séricos de hemoglobina glicada serão avaliados. As análises imunológicas e microbiológica serão realizadas em no mínimo 2 bolsas com PS 4 mm e com presença de sangramento à sondagem no início, 90 e 180 dias após o tratamento de manutenção. Também serão realizadas coletas de saliva nos mesmos períodos. Amostras subgengivais serão analisadas pela reação de PCR em tempo real (Porphyromonas gingivalis, Prevotella nigrescens, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia) e a análise imunológica será realizada para quantificar os marcadores IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF-a e INF-g pela tecnologia Luminex/MAGpix. Os dados clínicos, de hemoglobina glicada,microbiológicos e imunológicos obtidos serão submetidos à análise estatística.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar, por intermédio de estudo clínico randomizado controlado em humanos, a influência do efeito fotodinâmico associado ou não ao gel de liberação de oxigênio ativo como coadjuvante ao tratamento de bolsas residuais em pacientes portadores de diabetes melito tipo 2 não compensados e periodontite.

Objetivo Secundário:

Analisar o efeito da terapia fotodinâmica associada ou não ao gel de liberação de oxigênio ativo, na redução de periodontopatógenos e na modulação da resposta imunoinflamatória de pacientes portadores de periodontite e diabetes melito tipo 2 não compensados durante a terapia de manutenção.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos referentes a esta pesquisa são mínimos, visto que serão realizados procedimento de Raspagem e Aplainamento Radicular (RAR), por especialistas na área. A RAR é um procedimento rotineiro na odontologia, em que se remove os microrganismos presentes supra e subgengivalmente, sendo uma terapia conservadora. Já com relação à aPDT esta é uma técinica atraumática, indolor, localizada, específica, que tem o intuito de eliminar os microrganismos presentes nas bolsas periodontais profundas.

Benefícios: Todos os pacientes serão beneficiados diretamente por receber o tratamento

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

periodontal e orientações de higiene bucal, prevenindo o avanço da destruição periodontal, visto que o paciente diabético descompensado apresenta maior risco de desenvolvimento e progressão da periodontite. Além disto, esperamos que este estudo resulte em informações importantes sobre o tratamento da doença periodontal, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa esclarecer o efeito do uso da terapia fotodinâmica associado ao gel de liberação de oxigênio, onde o pesquisador se compromete a

divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa adequada, atendendo as normas do CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE e demais documentos estão corretos, de acordo com as normas do CEP.

Recomendações:

As recomendações do CEP foram atendidas pela pesquisadora.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo a aprovação do projeto de pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/03/2020.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetodetalhado_novo.docx	03/09/2019 17:40:41	Cristiane Duque	Aceito
Cronograma	Cronog_novo1.docx	03/09/2019 17:40:24	Cristiane Duque	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1377077.pdf	29/07/2019 21:35:23		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	29/07/2019 21:34:12	Marina Módolo Cláudio	Aceito

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Continuação do Parecer: 3.573.719

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetodetalhado.docx	12/07/2019 11:19:48	Marina Módolo Cláudio	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	10/07/2019 12:38:15	Marina Módolo Cláudio	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	18/06/2019 12:46:23	Marina Módolo Cláudio	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

ARACATUBA, 13 de Setembro de 2019

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

ANEXO B – CADASTRO NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A9F5E0B

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	**A9F5E0B**
Usuário:	**Leticia Helena Theodoro**
CPF/CNPJ:	**136.996.118-92**
Objeto do Acesso:	**Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso:	**Pesquisa**

Espécie

Porphyromonas gingivalis
Prevotella nigrescens
Fusobacterium nucleatum
Prevotella intermedia

Título da Atividade:	**Efeito da associação entre oxigênio ativo e terapia fotodinâmica no tratamento de bolsas periodontais residuais em pacientes diabéticos tipo 2: estudo clínico controlado randomizado**

Equipe

Leticia Helena Theodoro	**UNESP**
Marina Modolo Cláudio	**UNESP**
Cristiane Duque	**UNESP**
Valdir Gouveia Garcia	**UNESP**

Data do Cadastro:	**06/12/2021 16:10:06**
Situação do Cadastro:	**Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **16:11** de **06/12/2021**.

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO C – Normas de Publicação da Journal of Periodontology

Author Guidelines

Updated June 15 2022

Journal of Periodontology **Author Instructions**

New submissions should be made via the **Research Exchange submission portal.** For technical help with the submission system, please review our **FAQs** or contact **submissionhelp@wiley.com**.

MANUSCRIPT CATEGORIES

The *Journal of Periodontology* publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

The *Journal of Periodontology* accepts manuscript submissions online via the **Research Exchange submission portal.** Authors should prepare manuscripts in accordance with the instructions below. Failure to do so may result in delays or manuscript unsubmission.

Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under **General Format** and **Style**. All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the *Journal of Periodontology*.

ORIGINAL ARTICLES

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

Format
Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract
All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- Background: Describes the problem being addressed.
- Methods: Describes how the study was performed.
- Results: Describes the primary results.
- Conclusion(s): Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

Introduction
The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

Materials and Methods
This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

Results
Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and supplemental material as appropriate.

Discussion
New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

REVIEW ARTICLES
The *Journal of Periodontology* is no longer accepting submissions of reviews. Authors may be invited to submit reviews for potential publication, but unsolicited reviews will no longer be accepted.

COMMENTARIES
The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentaries should be concise (2,000 to 3,000 words) with no more than 50 references; however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused.

Introduction
This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

Body
The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated. The total combined number of figures and tables should not exceed six.

Summary
The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

Acknowledgment(s)
Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

CASE SERIES
The *Journal of Periodontology* no longer publishes Case Reports. Authors are encouraged to submit Case Reports to *Clinical Advances in Periodontics*. The Journal of Periodontology publishes selected Case Series that describe unusual case presentations, complex diagnoses, and novel approaches to treatment within the scope of practice of periodontology. These Case Series provide valuable information for clinicians and teachers in the field.
Case Series report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed Case Series may lead to hypotheses about the usefulness of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.
The requirements for patient consent, privacy, and institutional approval are well defined for manuscripts describing research on human subjects. These basic requirements are described by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) in their Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (available at: **www.icmje.org**) and are interpreted in the instructions to authors of all peer-reviewed biomedical journals, including the *Journal of Periodontology*.
Due to the changing ethical and legal environment around the use of patient information, the editorial team has received multiple questions about the need for subject consent from patients described in Case Series submitted for publication.
The following applies to most Case Series. It should be noted that the Editors will determine whether specific Case Series require additional approvals beyond what is described below.

Requirement for Ethics Board Approval
Most Case Series are a retrospective description of clinical findings in cases or an observed course of events that document a new aspect of patient management during the normal course of clinical treatment. Since there is no hypothesis testing, no systematic data collection beyond that which is part of routine clinical practice, no data analysis, and the work has already been done, Case Series do not usually qualify as "research" requiring approval from ethical boards designed to protect humans involved in clinical research.
(U.S. Fed. definition: "RESEARCH is any systematic investigation, including research development, testing and evaluation, designed to develop or contribute to generalizable knowledge.")
Example 1: Series of private practice implant cases in patients who have been taking bisphosphonates. Authors describe the

findings in each case, which are collected and reported in a table format.
Example 2: Authors collect series of private practice implant cases in patients who have or have not been taking bisphosphonates. The sample size is sufficient for data analysis, and authors analyze and report the incidence of complications.
Example 1 does not qualify as "research," but example 2 does qualify and requires ethical approval.
Please see "**Does My Case Series Need IRB Approval?**" for more information.

Privacy in Case Series
No patient identifiers should be included in Case Series. If the authors choose to include any subject identifiers, the authors must include the patient's informed written consent to publish the information.
Our policy conforms to the Uniform Requirements, which states: "Patients have a right to privacy that should not be violated without informed consent. Identifying information, including names, initials, or hospital numbers, should not be published in written descriptions, photographs, or pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that an identifiable patient be shown the manuscript to be published. Authors should disclose to these patients whether any potential identifiable material might be available via the Internet as well as in print after publication."
It should be noted that patients may have given a signed "consent to treat," but that does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript. Likewise, patient consent under government privacy rules, such as the Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) in the United States, does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript.

Format
Case Series must be limited to 2,000 to 3,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract
Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

• Background: Describes the clinical situation being discussed.
• Methods: Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.
• Results: Describes the clinical results.
• Conclusion(s): Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

Introduction
This section should include a critical review of the pertinent literature.

Case Description and Results
This section describes the cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

Discussion
This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the cases should be emphasized in all sections.

GUEST EDITORIALS

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the *Journal of Periodontology*, or on other items of interest to the readership.

LETTERS TO THE EDITOR

The *Journal of Periodontology* no longer accepts submissions of letters to the editor.

GENERAL FORMAT

Manuscripts must be submitted in Microsoft Word. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom and all text should be double-spaced. Materials should appear in the following order:

• Title Page
• Abstract (or Introduction) and Key Words
• Text

• Footnotes
• Acknowledgment(s)
• References
• Figure Legends
• Tables

Figures should not be embedded in the manuscript. Please see the *Journal of Periodontology* **Digital Art Guidelines** for more information on submitting figures.
Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

SEARCH ENGINE OPTIMIZATION

For tips on Search Engine Optimization (SEO) and article discovery, please see our **SEO guide.**

TITLE PAGE

The title page should contain:

1. a concise but informative title;
2. first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation, including department, for each (please use footnote numbers in the sequence [1, 2, 3,] etc. to identify authors and their corresponding institutions);
3. disclaimers, if any;
4. the name and address (including fax number and e-mail) of the author responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published);
5. word count and number of figures, tables, and references in the manuscript;
6. a short running title of no more than 60 characters, including spaces;
7. a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

KEY WORDS

A maximum of six key words or short phrases, drawn from **MeSH documentation**, to facilitate indexing should be listed below the abstract.

ACKNOWLEDGMENT(S) AND CONFLICTS OF INTEREST

Acknowledgment(s)
Following the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

Conflicts of Interest
In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the *Journal of Periodontology* requires that all authors declare potential competing interests relating to papers submitted for publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

1. A statement in the acknowledgments section of the manuscript that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.

2. A conflict of interest and financial disclosure form for each author. Please see the ***Journal of Periodontology*** Conflict of Interest Form **here**

Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

Example of Conflict of Interest Statement

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, Massachusetts. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation. Drs. Able, Kim, and Bruce report no conflicts of interest related to this study.

REFERENCES

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited.

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please search for the journal at **https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog**.

The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited and should include the manuscript's DOI, if known. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the *Journal of Periodontology*'s preferred reference style.

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Kurita-Ochiai T, Seto S, Suzuki N, et al. Butyric acid induces apoptosis in inflamed fibroblasts. *J Dent Res* 2008;87:51-55.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non–English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996;12:152-157.

Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loë H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.
8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

Electronic Citations

Note: DOIs are preferred for journal articles. If a DOI is not available, please provide a URL and access date.

9. Online-only article. Rasperini G, Acunzo R, Limiroli E. Decision making in gingival recession treatment: Scientific evidence and clinical experience. *Clin Adv Periodontics* 2011;1:41-52. doi:10.1902/cap.2011.100002.
10. Ahead of print. McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, et al. Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingiva. Results from a randomized, within-patient, controlled trial [published online ahead of print March 29, 2011]. *J Periodontol*; doi:10.1902/jop.2011.100671.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Periodontal Disease. Available at: **https://www.cdc.gov/oralhealth/conditions/periodontal-disease.html**.

TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules. The submission system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

FIGURES

Please see the *Journal of Periodontology*'s **Digital Art Guidelines** for detailed instructions on submitting high-quality images.

FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliations; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment, medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: *, †, ‡, §, ‖, ¶, #, **, ††, etc.

SUPPORTING INFORMATION

The *Journal of Periodontology* includes supplementary/supporting information in the online Journal. All supplementary material should be called out in the text.

Supplementary Figures and Tables
Journal of Periodontology articles are limited to a combined total of six figures and tables in the print publication. Any additional figures and tables should be submitted as supplementary files. Each supplementary figure or table should be submitted as a separate file. Please follow the guidelines regarding resolution, format, etc. for printed figures (see **Figures** above) and tables (see above) when preparing supplementary figures and tables. In summary, each figure, table, or multimedia file should be uploaded separately and the file names should clearly identify the file (i.e., SupplementaryFigure1.tif, SupplementaryTable1.xls, etc.). If file size limitations prevent you from uploading your supplemental material, please e-mail **jerry@perio.org**.

Supplementary Videos
The Journal of Periodontology publishes short videos to supplement a paper when appropriate. Most standard video formats are accepted. Videos should be edited to remove extraneous material. Authors should adhere to OSHA regulations when preparing their videos. Please e-mail **julie@perio.org** for information on how to submit videos. If your video is accepted for publication, all authors will need to submit a video copyright form. This form can be found on ScholarOne Manuscripts in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms."

Authors can create video abstracts for their articles through Wiley's partnership with Research Square. Visit the **Wiley** and **Research Square** websites for more information about this video option. Authors are also welcome to create and submit their own videos.

STYLE

Please follow the guidelines below when preparing a manuscript:

• Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.
• Do not italicize common Latin terms such as in vitro, in vivo, e.g., or i.e.
• Use a block style; do not tabulate or indent material.
• Refer to the newest edition of the **Glossary of Periodontal Terms** published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.
• Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the Journal of Periodontology, **volume 89 supplement** (Proceedings of the World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions).
• Create equations as text, treating any mathematical symbols as special characters and assigning them the Symbol font.
• Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal) numbering system.
• Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

AUTHORSHIP

Individuals identified as authors must meet all of the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition, analysis, or interpretation of data; 2)

drafting the article or revising it critically for important intellectual content; 3) final approval of the version to be published; and 4) agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.
Once the *Journal of Periodontology* has received a manuscript, any changes in authorship must be e-mailed to **jerry@perio.org** and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (see below).

Wiley's Author Name Change Policy
In cases where authors wish to change their name following publication, Wiley will update and republish the paper and redeliver the updated metadata to indexing services. Our editorial and production teams will use discretion in recognizing that name changes may be of a sensitive and private nature for various reasons including (but not limited to) alignment with gender identity, or as a result of marriage, divorce, or religious conversion. Accordingly, to protect the author's privacy, we will not publish a correction notice to the paper, and we will not notify co-authors of the change. Authors should contact the journal's Editorial Office with their name change request.

Conflict of Interest and Financial Disclosure Form
A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted by each author (please see the ***Journal of Periodontology*** Conflict of Interest Form **here)** A link to this electronic form will be e-mailed to each author after manuscript submission. Due to this, **all authors are required to have accounts with valid e-mail addresses in ScholarOne Manuscripts** and be listed as authors for the submitted paper. Submitting authors are able to create accounts for co-authors.

CLINICAL TRIALS

If your manuscript is reporting a randomized clinical trial, you are required to submit a **CONSORT checklist** with your manuscript. More information can be found at **www.consort-statement.org**.
All clinical trials must be registered prior to submission to the Journal of Periodontology at one of the registration sites listed below. The registration number and date of registration should be included in the Materials and Methods section. **Starting January 1, 2016, all clinical trials must be registered prior to initiation (i.e., recruitment) of the trial.**
Please see **https://www.clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn#WhatIs** for more information regarding clinical trials.

• U.S. National Institutes of Health Clinical Trials Registry - **http://www.clinicaltrials.gov**
• EU Clinical Trials Register - **https://www.clinicaltrialsregister.eu**
• WHO International Clinical Trials Registry Platform - **http://www.who.int/ictrp/en**

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects **AND** that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration as revised in 2013. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless written consent from the patient is submitted.
For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was conducted in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

PRODUCT IDENTIFICATION

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

REVISED MANUSCRIPTS

Revised manuscripts should be submitted online at **ScholarOne Manuscripts** by the same author who submitted the original manuscript. Authors have 30 days to submit a revision. Revisions should adhere to the same requirements as original submissions. Additionally:

1. A detailed response to each reviewer comment for the original manuscript should be included. This response should also describe what changes were made in the manuscript to address each comment in the reviews.
2. Only the most recent version of each file should be uploaded. You may have to delete older files from the Author Center.
3. **Please Any modified or added text must be highlighted in yellow in the revised manuscript.**
4. Figures and tables should be resubmitted with revised manuscripts, even if they were not revised.

REVIEW PROCESS

Peer Review
The *Journal of Periodontology* is a peer-reviewed publication. All manuscripts are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

MANUSCRIPT ACCEPTANCE

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to log in to Author Services where, via the Wiley Author Licensing Service (WALS), they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper. Once all forms are received by the editorial office, an unedited version of the accepted manuscript will appear online ahead of print on the journal's website. Once a manuscript is online ahead of print, it is fully citable based on the Digital Object Identifier (DOI) assigned to the manuscript. Manuscripts will be copyedited, published online, and printed in an issue of the *Journal of Periodontology* approximately 4 to 6 months after acceptance.

Copyright Transfer Agreement (CTA)

If the Open Access option is not selected, the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the **Copyright FAQs**.

Open Access

If the Open Access option is selected, the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

• Creative Commons Attribution Non-Commercial License
• Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License
• Research Councils UK (RCUK) and Wellcome Trust authors will use the Creative Commons Attribution License

Please visit the terms and conditions of these open access agreements **here**.

If you select the Open Access option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK), you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and RCUK requirements. For more information on this policy and the journal's compliant self-archiving policy please visit: **http://www.wiley.com/go/funderstatement**.

American Academy of Periodontology members receive a discount on open access fees. Visit Wiley's **hybrid open access** and **pricing** pages for more information.

Reprints
Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading.

Funding Agency Requirements

Consistent with current policies, authors who have papers based on funded research accepted for publication in the *Journal of Periodontology* may make their final accepted paper or published article available to agency depositories. However, authors should indicate that the paper may not be released publicly until 12 months following final publication in an issue.

Authors are responsible for complying with all funding agency requirements.

QUESTIONS

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Editorial Specialist, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660. Telephone: 312/573-3255; e-mail: **jper@wiley.com**.
Production queries regarding accepted papers can be emailed to **jperprod@wiley.com**.