



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

**MARIÉLLEN LONGO**

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DA  
DOENÇA PERIODONTAL:  
Revisão da Literatura.**

**ARAÇATUBA - SP**

**2009**

**MARIÉLLEN LONGO**

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DA  
DOENÇA PERIODONTAL:  
Revisão da Literatura.**

Trabalho de Conclusão de Curso como requisito para a conclusão do curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Titular Valdir Gouveia Garcia

Co-orientador: Prof. Adjunto Álvaro Francisco Bosco

**ARAÇATUBA - SP**

**2009**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente à Deus por ter me dado força de vontade para nunca desistir apesar das dificuldades.

À minha família, as alegrias da minha vida, principalmente os meus pais, Sebastião Longo e Roseli Aparecida dos Santos Longo, que sempre me ajudaram e incentivaram a concretizar meus sonhos com amor, admiração, gratidão e por sua compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.

A todos os professores que de alguma forma contribuíram para esta conquista e aos verdadeiros amigos que ganhei no decorrer deste período.

## **AGRADECIMENTOS**

A Minha Família pelo apoio e colaboração, que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo sempre fizeram entender que o futuro, é feito a partir da constante dedicação no presente.

Aos meus amigos e amigas, minha segunda família, pelo incentivo e troca de experiências. Jamais lhes esquecerei.

Ao meu Orientador Professor Titular Dr. Valdir Gouveia Garcia, pelo estímulo e atenção que me concedeu durante o curso e apoio durante o processo de definição e orientação deste trabalho, Obrigada pela confiança e ensinamentos.

Ao Leandro Araújo Fernandes pela ajuda, apoio e orientação do trabalho.

À Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade de realização do curso de Graduação de Odontologia.

Aos Professores da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, pela dedicação e ensinamentos que me proporcionaram no curso.

Por final, à aquele, que me permitiu tudo isso, ao longo de toda a minha vida, e, não somente nestes anos como universitária, à você meu DEUS, obrigado.

**EPIGRAFE**

*Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.*

*Roberto Shinyashiki*

LONGO, M. **Efeito da Terapia Fotodinâmica no tratamento da Doença Periodontal: Revisão da Literatura.** 2009. 73 f. Monografia (Graduação)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

## RESUMO

Periodontite é uma doença multifatorial que está associada à perda dos tecidos de suporte (ligamento periodontal, osso alveolar e cimento) ao redor dos dentes, e o principal agente etiológico local é o biofilme dental. O objetivo principal do tratamento periodontal é o restabelecimento da saúde periodontal pela remoção dos depósitos bacterianos supra e subgingival presentes na superfície radicular através da raspagem e alisamento radicular. No entanto a terapia mecânica não é capaz de eliminar os patógenos periodontais devido a capacidade que alguns microrganismos apresentam de se instalarem em áreas inacessíveis aos instrumentos periodontais, além da penetração no interior da parede mole da bolsa. Assim a terapia química com o uso de antibióticos é considerada um tratamento coadjuvante à terapia mecânica, mas o uso indiscriminado dos antimicrobianos para redução dos periodontopatógenos tem levado a seleção e resistência bacteriana. Desta forma, a busca por métodos coadjuvantes ao tratamento periodontal tem aumentado nos últimos tempos. Com o advento do laser de baixa intensidade surgiu uma nova opção terapêutica para diferentes condições que afetam os tecidos e sua associação com drogas fotossensibilizadoras (cromóforos) constitui a chamada Terapia Fotodinâmica (PDT). Esta associação promove um maior efeito fotobiológico, podendo inclusive, promover a ação letal sobre células e microorganismos. Neste sentido, a PDT surge como um tratamento alternativo ao uso de agentes antimicrobianos tradicionais no tratamento periodontal. Frente a estes fatos, constitui propósito do presente estudo apresentar revisão da literatura sobre o efeito da terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal. A análise da literatura demonstrou que a terapia fotodinâmica é eficaz na redução: das bactérias periodontopatogênicas, perda óssea alveolar na região de furca em periodontites, dos sinais clínicos da doença periodontal, da inflamação ao redor dos dentes, além de permitir uma reparação mais rápida dos tecidos, apresentando-se como coadjuvante promissor à raspagem e alisamento corono-radicular. Embora existam evidências científicas desses achados, novos estudos devem ser realizados para se determinar parâmetros específicos do laser e do agente fotossensibilizador, para tornar a terapia fotodinâmica mais efetiva e previsível.

Palavras-chave: Doença Periodontal. Periodontite. Laser. Fotossensibilizadores. Terapia fotodinâmica (PDT).

LONGO, M. **Effect of the Photodynamic Therapy in the treatment of the Periodontal Disease: Revision of Literature.** 2009. 73 f. Monografia (Graduação)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

### ABSTRACT

Periodontitis is a multifactorial disease that is associated to the loss of support tissue (periodontal ligament, alveolar bone and cementum) around the teeth and the main local etiologic agent is the dental biofilm. The main objective of the periodontal treatment is the reestablishment of the periodontal health for the removal of the bacterial deposits supra and subgingival gifts at the surface radicular through the scaling and root planing. However the mechanical therapy is not able to eliminate the periodontal pathogens due the capacity that some microorganisms have to install in inaccessible area to the periodontal instruments, beyond the penetration the interior of the soft wall of the pocket. Thus the chemical therapy using antibiotic is considered a coadjuvants treatment to the therapy mechanical, but the indiscriminate use of antimicrobials for reduction of the periodontopathogens have taken the selection and bacterial resistance. In such a way, the search for coadjuvants methods to the periodontal treatment has increased in the last times. With the advent of low level laser emerged a new therapeutic option for different conditions that affect the tissues and its association with photosensitizing drugs (chromophore) constitutes the call Photodynamic Therapy (PDT). This association promotes a greater effect photobiology, may also promote the lethal action on cells and microorganisms. In this direction, the PDT appears as an alternative treatment to the use of agent traditional antimicrobials in the periodontal treatment. Front to these facts, the purpose constitutes to review the present study's literature on the effect of the photodynamic therapy in the treatment of the periodontal disease. The analysis of literature demonstrated that the photodynamic therapy is efficient in the reduction: of the periodontopathogenic bacteria, alveolar bone loss in the furcation area in periodontitis, the clinical signs of periodontal disease, the inflammation around of teeth, beyond allowing to a faster repairing of tissues, presenting itself as coadjuvants promising to the scaling and planing crown-root. Although there are some scientific evidences already documented, new studies must be done to determine the laser's parameters and the photosensitizing agent, so that the photodynamic therapy becomes more effective and previsible.

Keywords: Periodontal Disease. Periodontitis. Laser. Photosensitizer. Photodynamic Therapy (PDT).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa =	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
AsGaAl =	Arseneto de Gálio e Alumínio
ATP =	Adenosina trifosfato
BOP =	Sangramento de sondagem
CAL =	Nível de inserção clínica
C.e.=	Capnocytophaga species
cm =	Centímetro
C.r.=	Campylobacter rectus
D =	Densidade
DNA =	Acido desoxirribonucléico
E.c.=	Eikenella corrodens
ELISA =	Ensaio immunoabsorbent enzima-lig
E.n.=	Eubacterium nodatum
FDA =	Food and Drug Administration
FMBS =	Contagem de sangramento da boca toda
FMPS =	Contagem de placa da boca toda
F.n.=	Fusobacterium nucleatum
FS=	Fotossensibilizador
FSs =	Fotossensibilizadores
GCF =	Fluido gengival crevicular
HCL =	Acido clorídrico
HeNe =	Hélio-neônio
HLLT =	Laser de alta intensidade (High reactive level laser treatment)
HpD =	Derivados da hematoporfirina
Hz =	Hertz (Frequência) – número de oscilações completas de uma onda por segundo, e expresso em Hertz ou pulsos por segundo.
J =	Joule – Uma unidade de energia
J/cm <sup>2</sup> =	Joules por centímetro quadrado. Joules refere-se uma unidade de energia aplicada em uma área.
Kg =	Unidade fundamental de medida de massa.
Laser =	Acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiations/ Luz amplificada pela emissão estimulada de radiação



LEDs =	Luz emitindo de diodo(s)
LLLT =	Laser de baixa intensidade (Low Level Laser Therapy)
MB =	Azul de metileno
mg =	Miligramas, equivalente à milésima parte do grama.
mg/mL =	Miligrama por mililitro
mm =	Milímetro, equivalente à milésima parte do metro.
mW =	Milionésima parte do Watt- miliwatt
Nm =	Nanometro – Bilionésima parte do metro, utilizado para medir o comprimento de onda. Sua abreviatura é 10 <sup>-9</sup> metros.
P =	Potência
PD =	Profundidade de sondagem
PDT=	Photodynamic Therapy- Terapia fotodinâmica
P.i.=	Prevotella intermédia
P.m.=	Peptostreptococcus micros
PP=	Patogénicos periodontais
PPD =	Profundidade de sondagem de bolsa
P.g.=	Porphyromonas gingivalis
P.gingivalis=	Porphyromonas gingivalis
PVP =	Polivinilpirrolidone
RANKL=	Ativador do receptor do ligante nuclear do fator-Kappa B
REC =	Recessão gengival
RM =	Remoção mecânica
SFFR =	Taxa de fluxo do fluido sulcular
S. mutans=	Streptococcus mutans
SRP =	Raspagem e alisamento radicular
S.sanguinis=	Streptococcus sanguinis
S. sobrinus =	streptococcus sobrinus
TB =	Azul de toluidina
TBO =	Azul de toluidina O
T.d. =	Treponema denticola
T.f.=	Tannerella forsythensis
TNF-alfa=	Fator-alfa necrose tumoral
USA =	Estados Unidos da América
UFC =	Unidades formadoras de colônia

USP =	Universidade de São Paulo
W =	Watt, unidade de potência
$\mu\text{l}$ =	Microlitro
$\mu\text{M}$ =	Micro molar
$\mu\text{g}$ =	Microgramas, equivalente à milionésima parte do grama
$\mu\text{g/mL}$ =	Microgramas por mililitros.
$\lambda$ =	Comprimento de onda
% =	Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>3.a. Doença periodontal.....</b>	<b>16</b>
<b>3.b. Laser.....</b>	<b>18</b>
<b>3.c. Terapia fotodinâmica.....</b>	<b>22</b>
<b>3.d. Pesquisa in vitro.....</b>	<b>30</b>
<b>3.e. Pesquisa in vivo.....</b>	<b>36</b>
3.e.1. Animais.....	36
3.e.2. Humanos.....	46
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>56</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Doença Periodontal é o resultado da destruição dos tecidos de suporte do elemento dental pela ação de microorganismos periodontopatógenos. Esses microorganismos liberam substâncias que agredem diretamente os tecidos periodontais, além de induzir a destruição tecidual por respostas inflamatórias e imunológicas do próprio hospedeiro. Além disso, fatores sistêmicos tais como diabetes, tabaco e estresse podem influenciar no desenvolvimento de doenças periodontais mais agressivas (FERNANDES, 2007).

Causada por placa dental e um biofilme ( principal fator etológico ) é caracterizado por sinais clínicos da inflamação como, sangramento na sondagem ,edema e perda de tecidos de suporte periodontal (ALMEIDA, et al, 2008).

É uma doença multifatorial modificada por numerosos fatores de risco. Numerosas diferentes espécies de bactérias residem no biofilme da placa sendo responsável por induzir e manter a inflamação (MEISEL; KOCHER, 2005).

Em países industrializados, a periodontite afeta 30 a 50% da população adulta, 10% apresentam sintomas severos (MEISEL; KOCHER, 2005).

Ainda é amplamente aceito que a iniciação e progressão da doença periodontal são causadas pela presença de microorganismos patogênicos. Estes microorganismos, principalmente bactérias anaeróbicas, podem causar danos diretos e indiretos ao periodonto, por ativar uma variedade de resposta no hospedeiro, que resultará em destruição do tecido conjuntivo e ósseo (DEAS et al, 2003).

Frente a tais fatos, tentativas de controlar os efeitos destrutivos das doenças periodontais crônicas e a regenerar os tecidos perdidos, irão requerer o restabelecimento da junção dentogengival. A terapia periodontal convencional, seja de natureza cirúrgica ou não cirúrgica, usualmente envolve instrumentação do complexo dentogengival inflamado (AUKHIL, 2000), e já está largamente demonstrado e documentado na literatura que o sucesso da terapia periodontal consiste na remoção da placa supragengival e principalmente, pela completa remoção mecânica da placa subgengival com a técnica de raspagem e alisamento radicular (SLOTS, 1979). Clinicamente há evidências que a Raspagem e Alisamento Radicular (RAR) com instrumentos manuais é a terapia mais efetiva no tratamento da doença periodontal (AINAMO et al, 1992; CATON et al, 2001).

No entanto sua efetividade é limitada em determinadas condições clínicas como em áreas de bi ou trifurcações, depressões radiculares ou até mesmo por condições da dimensão da ponta ativa dos instrumentos periodontais que mostram-se incapazes de atingir a

plenitude de efetividade nestas áreas. Diferentes terapias coadjuvantes ao tratamento mecânico de raspagem e alisamento radicular são propostas para o tratamento periodontal. Dentre estas inclui-se o uso de antibióticos, sendo o mais utilizado os derivados da tetraciclina (AINAMO et al., 1992; CATON et al., 2001), administrados local (MOSKOW; TANNENBAUM, 1991) ou sistemicamente (MEALEY; RETHMAN, 2003). Com o avanço das pesquisas, embasadas no melhor conhecimento da etiologia das doenças periodontais e em evidências da especificidade microbiana, têm sido levantadas dúvidas quanto à eficácia do tratamento de raspagem e alisamento radicular como forma de terapia única em algumas periodontites (WAERHAUG, 1978; RABBANI; CAFFESSE, 1981; SOCRANSCKY; HAFFAJEE, 1998).

Por este motivo alguns autores indicam a terapia química associada ao tratamento de raspagem e alisamento radicular (LOESCHE et al., 1981; GOODSON et al., 1985; NOYAN et al., 1997; AWARTANI; ZULQARNAIN, 1998).

Então essa terapia química é usada em casos que não respondem satisfatoriamente ao tratamento convencional. Consiste na utilização de agentes antimicrobianos como antibióticos e anti-sépticos administrados localmente ou por via sistêmica. Porém o problema do uso do antibiótico é a seleção de bactérias resistentes responsáveis pela propagação da doença periodontal (ALMEIDA, 2004).

Em vista disso, métodos alternativos ao tratamento da periodontite com antibióticos têm sido investigados (MATEVSKI et al., 2003). Assim a tecnologia dos lasers na área da saúde vem avançando e melhorando as possibilidades de realizarmos procedimentos menos invasivos, com resultados iguais ou melhores que os métodos tradicionais.

O emprego dos diversos tipos de Lasers em periodontia tem crescido muito nas últimas décadas o que pode ser notado pela quantidade significativa de publicações científicas de experimentos realizados não só em animais, como também em humanos (MESTER et al., 1968; MESTER et al., 1971; MESTER, 1973; MESTER; JASZSAGI-NAGI, 1973; MESTER et al., 1976; MESTER et al., 1978; MESTER et al., 1985; AVERBAKH et al., 1976; KANA et al., 1981; SURINCHAK et al., 1983; SOARES et al., 1989; GARCIA, 1992; LEE et al., 1993; BISHT et al., 1994; MISERENDINO; PICK, 1995; KAMEYA et al., 1995; LOWE et al., 1998; ESPINOSA, 1999; MALDONADO, 2000; REZENDE, 2001; KÖMERIK et al., 2002; YILMAZ et al., 2002; KÖMERIK et al., 2003; ALMEIDA, 2004; MEISEL E KOCHER, 2004; HAYEK et al., 2005; SIGUSCH et al., 2005; QIN, 2006; ALMEIDA, 2007; QIN, 2007; CHONDROS, 2007; ANDERSEN et al.,

2007; OLIVEIRA et al., 2007; CARGNELUTTI, 2007; ALMEIDA, 2008; BRAUM, 2008; FERNANDES, 2009; LUAN, 2009; OLIVEIRA et al., 2009; PINHEIRO, et al., 2009).

Sendo uma forma de energia que se transforma em energia luminosa visível ou não dependendo da matéria que produz esse tipo de radiação (CONLAN et al., 1996).

Mais recentemente a PDT (Terapia Fotodinâmica) tem sido empregada na Odontologia, com grandes perspectiva no controle antimicrobiano, para promover efeitos letais sobre microrganismos principalmente nos da doença periodontal (ALMEIDA, 2004), constituindo-se em uma eficiente alternativa no tratamento de infecções microbianas (ALMEIDA, 2008). Estudos têm apresentado resultados satisfatórios com a utilização da PDT, na doença periodontal experimental em animais (KOMERIH, 2003; SIGUSH et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007; YAMADA, 2007; ALMEIDA et al., 2008) e em humanos (YILMAZ, et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2007; ANDERSEN et al., 2007). Foi descrita inicialmente para promover ação letal sobre células cancerígenas, sendo utilizado nos últimos anos para tratamento de outras doenças, constituindo-se em procedimentos aprovados pela U.S Food and Drug Administration (FDA) e por inúmeras agencias da saúde ao redor de todo mundo (ALMEIDA, 2006). Desta forma a terapia fotodinâmica tem despertado o interesse de muitos estudiosos (FERNANDES, 2007) devidos os efeitos antibacterianos da PDT, inclusive contra bactérias orais, essa passou a ser estudada no tratamento da doença periodontal (FERNANDES, 2007).

A PDT é definida como uma reação fotoquímica oxigênio-dependente ,fundamentando-se na possibilidade do laser interagir com drogas fotossensibilizadoras (cromóforos),o que promoverá um maior efeito fotobiológico, podendo inclusive, promover a ação letal sobre células e microrganismos (FERNANDES, 2007), devido a geração de espécies de oxigênio reativo principalmente oxigênio singleto ou radicais livres (ALMEIDA, 2007).

Recentemente, temos observado um número muito grande de pesquisas tanto in vitro" como "in vivo" que demonstram as vantagens da utilização da terapia fotodinâmica no controle antimicrobiano e no tratamento da doença periodontal como terapia coadjuvante.

## **2. PROPOSIÇÃO**

Constitui propósito do presente trabalho realizar uma revisão da literatura sobre o efeito da terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3. a. Doença Periodontal

O periodonto interliga o dente ao osso dos maxilares e é responsável pelo seu suporte durante a função, sendo constituído por tecido conjuntivo, protegido por epitélio pavimentoso estratificado, queratinizado na superfície mastigatória e por epitélio não queratinizado nas superfícies juncional e do sulco (MELCHER, 1976).

Embora o periodonto seja uma estrutura altamente especializada e organizada está susceptível a ação de microorganismos. Frente a estes microorganismos, processos inflamatórios e imunológicos são desencadeados nos tecidos periodontais como forma de impedir que estes microorganismos se disseminem ou invadam os tecidos.

Estes processos representam as características predominantes da gengivite e da periodontite.

A reação inflamatória pode ser visível, microscopicamente pela análise do infiltrado inflamatório e clinicamente pela alteração da cor da gengiva e também pela sua forma.

Portanto, os processos inflamatórios e imunológicos são mecanismos de defesa do hospedeiro, que em alguns casos podem ser prejudiciais, pois são capazes de danificar ou destruir células e estruturas vizinhas do tecido conjuntivo, além do osso alveolar. Tais reações não são desencadeadas em resposta a uma simples espécie bacteriana, mas a uma infecção bacteriana mista. Como resultado da evolução da doença periodontal teremos a perda do osso alveolar, degradação de fibras colágenas e migração apical do epitélio juncional a partir da junção cimento-esmalte (LINDHE et al., 1999), e finalmente possível perda do dente.

Dados atualmente disponíveis na literatura mostram que as substâncias oriundas dos microrganismos presentes no biofilme dental são patogênicas porque têm a capacidade de ativar determinados mecanismos de defesa do hospedeiro que amplificam o dano tecidual.

Algumas destas substâncias podem causar injúria direta às células e aos tecidos do hospedeiro. Outros componentes microbianos podem ativar o processo inflamatório ou o sistema imune celular e humoral, o que secundariamente danifica o periodonto. É esta última via a responsável pela maior parte das injúrias periodontais (PAGE; KOMMAN, 1997), sendo, também, considerada como a grande responsável pela grande variação na resposta do hospedeiro ao biofilme, constituindo um fator importante na etiopatogênese da doença periodontal (KINAME et al., 1999).

Desta forma, a patogênese da doença periodontal provoca a destruição das estruturas de sustentação dental, como resultado da ação ineficiente do sistema de defesa do hospedeiro em resposta ao acúmulo do biofilme. Este processo patogênico apresenta diferenças na extensão e severidade no próprio indivíduo, tendo diferentes sítios acometidos pela doença e, entre diferentes indivíduos e as razões para estas diferenças são multifatoriais (GONÇALVES, 2002; ALMEIDA, 2004), e podem ser modificadas por inúmeros fatores de risco.

Os fatores de risco para a doença periodontal incluem fator genético, cigarro e diabetes mellitus não controlada (ALMEIDA, 2007).

O sucesso do tratamento periodontal depende da eliminação dos fatores que contribuem para a destruição dos tecidos periodontais de suporte, como: eliminação ou controle dos agentes etiológicos em especial o controle do biofilme dental. A redução significativa da microbiota subgengival patogênica pode ser obtida pelo procedimento de raspagem e alisamento, essa terapia periodontal convencional pode ser de natureza cirúrgica (campo aberto) ou não cirúrgica (campo fechado), consistindo na remoção de placa supragengival e principalmente pela completa remoção mecânica da placa subgengival, resultando em uma significativa melhora clínica, porém não elimina as chances de recorrência e progressão da doença.

Essa raspagem e alisamento radicular é de extrema importância, pois remove depósitos bacterianos, cálculos, e camadas superficiais das raízes como cimento e dentina.

Esse cimento e dentina remanescente após a raspagem e alisamento radicular podem ainda estar contaminados tanto pela presença de microrganismos nas suas superfícies bem como na camada de smear layer formada durante o procedimento da raspagem e alisamento radicular podendo interferir no processo de reparo periodontal (ALMEIDA, 2006).

Entretanto a terapia mecânica utilizada isoladamente pode ser falha na eliminação de bactérias patogênicas por localizarem-se no interior dos tecidos moles, duros ou em áreas inacessíveis aos instrumentos periodontais como áreas de furca e depressões radiculares.

Devido a estas limitações coadjuvantes que promovam a eliminação de patógenos periodontais tem despertado o interesse de muitos pesquisadores que consideram o uso de antibióticos e anti-sépticos efetivos no tratamento periodontal, assim é notório na literatura a preocupação dos autores com o tratamento químico como agente coadjuvante aos procedimentos mecânicos na remoção do biofilme dental sobre a superfície radicular, tendo diferentes formas de tratamento químico radicular sido proposto, como o ácido cítrico (REGISTER; BURDICK, 1976; POLSON; PROYE, 1983; HANES et al., 1988, BABAY,



2001), ácido fosfórico (BLOMLÖF; LINDKOG, 1995; BLOMLÖF, 1996; FARDAL; LOWENBERG, 1990), EDTA (BLOMLÖF et al., 2000; BABAY, 2001; PILATTI, 2001), tetraciclina (MATTSON et al., 1999; BABAY, 2000; ISIK et al., 2000; BABAY, 2001), Metronidazol (LOESCHE et al., 1981; 1992), Doxíciclina (POLSON et al., 1997; FERREZ et al., 1999), Clorexidina, minoxicilina (VAN STEENBERGHE et al., 1993) e mais recentemente o Laser de alta intensidade (THEODORO et al., 2003; ALMEIDA, 2004).

Por outro lado a literatura evidencia também inúmeras pesquisas que demonstram a seleção e resistência bacteriana promovida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos na terapêutica periodontal.(FERNANDES, 2007).

Nesse contexto métodos alternativos de redução bacteriana tais como o uso de sistemas de laser e associados com corantes (PDT) pode ser um método complementar para o tratamento periodontal convencional (ALMEIDA, 2007).

### **3. b. Laser**

A palavra LASER é um acrônimo com origem na língua inglesa, Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation “amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Radiação” (LIMA, 2004).

É uma forma de energia que se transforma em energia luminosa visível ou não, dependendo da matéria que produz esse tipo de radiação (CONLAN et al., 1996) e emite uma radiação eletromagnética não ionizante, é uma radiação que se encontra no espectro de luz que varia do infravermelho ao ultravioleta, passando pelo espectro visível.

As raízes da tecnologia laser começaram em 1917, quando Einstein formulou a Teoria da “Emissão Estimulada”.

Com o avanço da tecnologia nas áreas médicas e odontológicas, surgiu o primeiro Laser na Califórnia (USA) criado por Theodore Maiman em 1960, com finalidades cirúrgicas tendo como meio ativador o rubi, emitindo na faixa (694,3 nm) do espectro visível. Posteriormente em 1965, Sinclair e Knoll empregaram o laser com objetivos terapêuticos e com isso uma nova expectativa no tratamento de prevenções terapêuticas e tratamentos cirúrgicos. A partir dessa conquista, surgiram os primeiros relatos e publicações sobre as aplicações do Laser utilizado para fotocoagulação em cirurgia de retina (ZARET et al., 1963; KAPANY et al., 1963; LIMA, 2004).

Assim o laser é muito utilizado em varias especialidades, tanto nas áreas da Física, quanto da Biologia e da Saúde. Entretanto, apesar de esse tipo de tratamento ser bastante conservador e atender aos anseios da Odontologia moderna, ainda não é uma realidade para muitos profissionais cirurgiões-dentistas, que tem por objetivo o seu uso para proporcionar aos pacientes uma nova alternativa de tratamento para vários procedimentos (MELLO; MELLO, 2001).

O laser já vem sendo utilizado a cerca de 3 décadas em cirurgia e hoje em varias especialidades da Medicina (Diagnósticos de lesões, Dermatologia, Oftalmologia, Otorrinolaringologia, Neurologia, Cardiologia, Gastroenterologia, Ortopedia, Urologia e Nefrologia), e apenas nos últimos 15 anos verificamos que o laser começou a ser utilizado com mais freqüência para intervenções nas estruturas dentais, e atualmente começa ser uma realidade na tecnologia Odontológica em vários países do primeiro Mundo e em alguns da America Latina (MELLO; MELLO, 2001).

A tecnologia dos lasers na área da saúde continua avançando e melhorando as possibilidades de realizarmos procedimentos menos invasivos, com resultados iguais ou melhores que os métodos tradicionais (MELLO; MELLO, 2001).

Porém os primeiros trabalhos que relacionan a sua utilização com o tratamento dental datam de Goldman (1964), e Stern & Sognaes (1972), sendo a partir destes estudos que este assunto começa a ser bastante pesquisado não apenas na Dentística, mas também na Periodontia em gengivectomia e na Endodontia para redução bacteriana de canais radiculares contaminados (EDUARDO et al.1993).

O seu principio de amplificação esta na criação de uma população de elétrons estimulados a saírem do seu estado natural para um estado de maior energia. Quando retornam ao seu estado original, esses elétrons emitem fótons com energia correspondentes a de transição do átomo. Através de um processo em cadeia uma avalanche de emissões estimuladas de fótons é produzida e acontece a amplificação do fenômeno. O feixe de fótons criado pode ser transportado através de um espelho semitransparente e a luz emitida é altamente monocromática e direcional, permitindo assim a obtenção de um foco extremamente preciso

A radiação laser é apenas uma desencadeadora para a regulação do metabolismo celular, por esse motivo é que são necessárias apenas baixas doses de energia.

O efeito sobre a célula vai depender do estado fisiológico que esta se encontra. Os efeitos da fototerapia com laser em baixa intensidade poderiam ser explicados por um

aumento da proliferação das células ou por mudanças na atividade fisiológicas de células excitáveis (KARU, 1989).

A luz laser é caracterizada por apresentar sempre ondas eletromagnéticas com o mesmo comprimento de onda e mesma cor (monocromaticidade). É, portanto, uma luz pura. Essa característica é importante devido à absorção seletiva do tecido humano, mesma direção (unidirecionalidade ou colimação), mesma frequência (coerência), diferenciando da luz normal que possui distintos comprimentos de onda, em todas as direções e é o resultado da combinação de vários espectros.

A energia pulsátil pode ser de baixa, média e alta potência, apresentando alterações de acordo com a intensidade.

Alta intensidade: os lasers de alta intensidade são aqueles usados em procedimentos cirúrgicos, geram injúria aos tecidos pelo seu efeito fototérmico e seus procedimentos provocam desnaturação celular, através da coagulação, vaporização e carbonização dos tecidos. Esta terapia é chamada de high reactive level laser treatment (HLLT).

Média intensidade ou mid-laser emitem radiações com potências medianas, sem poder destrutivo, sendo mais utilizados em fisioterapia.

Baixa intensidade: o uso de lasers de baixa intensidade se destina a geração de reações de fotobiomodulação celular, não devendo gerar efeitos térmicos e injúria tecidual, e sim efeitos terapêuticos, que ocorrem devido a reações fotoquímicas, fotoelétricas e fotoenergética, essa terapia é chamada de low reactive level laser treatment (LLLT) e são realizadas com os lasers terapêuticos.

Os emissores de laser podem ser classificados também quanto à emissão da luz laser, que pode ser pulsada, contínua, chaveada e outras, porém, consideraremos para as aplicações clínicas, somente os lasers que para a realização da terapia, possuam emissão de forma contínua.

Nos últimos anos, um tema muito interessante e de diversas divergências é a utilização do Laser de baixa intensidade (LLLT– Low Level Laser Therapy), tal pela sua ação biomoduladora dentro do comprimento de onda ( $\lambda$ ) do laser de hélio-neônio ( $\lambda = 632,8$  nm) ou do Laser diodo de semicondutores ( $\lambda = 670$  a  $960$  nm).

O laser de baixa potência (LILT) mais utilizado é o de Hélio-neônio (HeNe), atualmente sendo substituído pelo laser de diodo, esses lasers de baixa potência operam numa faixa visível do espectro (infravermelho) e seu comprimento de onda varia de  $600$  a  $900$  nm.

Mello & Mello (2001) classificam os lasers quanto ao seu meio ativo e quanto ao seu uso.

Karu e Mester são pesquisadores que contribuíram e muito para a utilização do Laser de baixa intensidade na clínica. Seu valor terapêutico é altamente controverso, variando desde o efeito placebo (RYDEN et al. 1994) à sua ação bactericida, à prevenção eficaz da cárie dental e à sua efetividade no processo de reparo.

Capacidade do Laser em baixa intensidade promover angiogênese (GARCIA, 1992), proliferação celular (MESTER et al., 1985; ENWEMEKA, 1988), aceleração da síntese de colágeno, inflamação e aceleração dos eventos envolvidos na reparação tecidual (ENWEMEKA, 1988; LAM; ABERGEL, 1986; BASFOR et al., 1986). Assim, o Laser, por sua capacidade de promover maior aporte vascular da área, favorecerá, conseqüentemente, maior diapedese das células inflamatórias na área tratada (ALMEIDA, 2004).

Sendo utilizado principalmente como auxiliares no reparo tecidual, na analgesia para aliviar a dor, controlar a inflamação e o edema, e atuar significativamente na velocidade da cura, na cicatrização de processo normal ou crônico.

Tem sido empregado com mais freqüência na prática clínica os lasers de AsGaAl (arseneto de gálio-alumínio) e de HeNe.

Os laser estimulam fibroblastos, colaborando na produção de fibras colágenas mais ordenadas, determinando um melhor padrão de cicatrização nas lesões (BASFOR, 1986).

O laser vermelho atua na biorregulação das organelas enquanto o infravermelho atua na biorregulação da membrana citoplasmática.

Na dependência do tipo de laser que estiver sendo utilizado pode produzir um efeito biológico em nível celular que consiste na estimulação seletiva das mitocôndrias, o que determinará um significativo aumento na produção de ATP, ou seja, há um incremento no metabolismo celular, a este mecanismo dá-se o nome de bioestimulação.

O aumento na produção de ATP acelera a divisão mitótica, aumentando os processos de reparação tecidual, conseguido à custa da maior cicatrização do tecido conjuntivo e neoformação de vasos, contribuindo para reparar perdas de substâncias.

### **3. c. Terapia Fotodinâmica (PDT)**

Consiste na associação de um corante ou agente fotossensibilizador a uma fonte de luz, baseando-se na administração tópica ou sistêmica de um corante não tóxico sensível à

luz seguida da irradiação em baixas doses com luz visível de comprimento de onda adequada (PERUSSI, 2007). Fundamentando-se na possibilidade do laser interagir com drogas fotossensibilizadoras (cromóforos) o que promoverá um maior efeito fotobiológico, podendo inclusive promover a ação letal sobre células e microrganismos (ALMEIDA, 2006).

O processo fotodinâmico requer a utilização de 3 fatores, um composto químico denominado fotossensibilizador (FS), a aplicação de uma luz que seja correspondente à banda de absorção do FS, e a presença de oxigênio (DOVIGO, 2007).

O termo “terapia fotodinâmica” é relativamente novo, mas a modalidade de tratamento que combina a administração da droga e subsequente exposição à luz solar é muito mais antiga. Existem relatos do uso de combinação de plantas ou extratos ingeridos oralmente (contendo psoralenos, furo [3,2-g] cumarina ou ácido 6- hidróxi-5-benzofuranoacrílico  $\delta$ -lactona) e luz do sol para tratar doenças de pele como vitiligo e psoríase com sucesso na Índia, Egito e China há 4000 anos.

A PDT foi descoberta acidentalmente em 1900 por *Von Tappeiner e Raab* (ALMEIDA, 2006), assim a técnica começou a ser empregada cientificamente, quando Oscar Raab, um estudante de medicina e aluno de von Tappeiner na Universidade Ludwig-Maximilian em Munique, observou que baixas concentrações do corante acridina na presença de luz sobre *Paramecia* levavam esse organismo unicelular à morte sendo esta a primeira investigação *in vitro* do efeito fotodinâmico (DOVIGO, 2007). O que Raab reportou é o princípio de uma nova modalidade clínica para o tratamento do câncer e outras moléstias, conhecida como Terapia Fotodinâmica (PDT) (MACHADO, 2000).

Von Tappeiner e Albert Jesoniek em 1903 realizaram o tratamento de carcinomas de células basais com aplicação de solução de 5% de eosina por via tópica e posterior exposição a lâmpadas ou a luz do sol. Além disso, no mesmo ano, publicaram um curto, mas notável artigo sobre o tratamento de herpes, psoríase e câncer de pele por aplicação tópica de eosina e subsequente exposição à luz do Sol. Von Tappeiner e seus colegas biomédicos afirmaram que essas reações eram altamente dinâmicas e diferiam da fotossensibilização de chapas fotográficas por certos corantes. Então o termo *Photodynamische Wirkung* (efeito fotodinâmico) foi cunhado, por von Tappeiner e Jodlbauer, para todas as reações fotobiológicas, envolvendo um fotossensibilizador que ocorrem na presença de oxigênio molecular e levam à destruição de tecidos (SETÚBAL, 2007).

A descoberta das propriedades de um derivado da hematoporfirina, em 1970, despertou um novo interesse clínico para a PDT, que atualmente vem sendo aplicada no tratamento de alguns tipos de neoplasias (DOVIGO, 2007).

Uma modalidade terapêutica promissora para a inativação de microrganismos patogênicos. Essa técnica foi originalmente desenvolvida para o tratamento de lesões cancerosas e vem sendo aplicada com sucesso na área da oncologia, promovendo danos irreversíveis nas células do tecido neoplásico (DOVIGO, 2007).

Os primeiros trabalhos utilizando a terapia fotodinâmica sobre bactérias orais foram realizados por Wilson et al. (1992). Neste momento o maior interesse dos autores era descobrir compostos químicos que pudessem ser efetivamente utilizados como fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica (FERNANDES, 2007).

Com o advento do laser em 1960 por Theodoro Maiman, esta terapia teve uma evolução significativa, pois possibilitou a utilização de uma fonte de luz intensa, coerente, colimada, monocromática, tendo ainda o efeito biomodulador sobre os tecidos (ALMEIDA, 2006).

No Brasil a implantação da Terapia Fotodinâmica envolveu no início os físicos do Instituto de Física de São Carlos (USP) e médicos do Hospital Amaral Carvalho de Jaú, São Paulo (SETÚBAL, 2007).

Foi inicialmente utilizada na área Médica para tratamento oncológico (TOMASELLI et al., 2001; ALMEIDA, 2004).

Inicialmente descrita para promover ação letal sobre células cancerígenas, tem sido utilizado nos últimos anos para outras doenças sendo inclusive procedimento aprovado pela FDA e por inúmeras agências da saúde ao redor de todo mundo (ALMEIDA, 2006). Desta forma a terapia fotodinâmica tem despertado o interesse de muitos estudiosos (FERNANDES, 2007).

No entanto, nos últimos anos observamos que tal modalidade tem sido objetivo de inúmeras pesquisas para o tratamento de infecções microbianas, principalmente em cepas resistentes ao tratamento convencional com antibióticos (MALIK et al., 1990; WILSON, 1994; WILSON et al., 1993, 1995; WAINWRIGHT, 1998; USACHEVA et al., 2001; CHAN; LAI, 2003; KOMERICK et al., 2003; ALMEIDA, 2004).

Recentemente, alguns estudos têm demonstrado o potencial da PDT na inativação microbiana, incluindo alguns tipos de vírus, bactérias e fungos (DOVIGO, 2007).

Assim a PDT apresenta inúmeras vantagens como constituir-se em terapia específica à célula alvo, não apresentar efeito colateral, iniciar sua atividade somente quando

exposta à luz e não favorecer a seleção de cepas resistentes (MAISCH, 2007) muito comum com o uso indiscriminado de antibióticos (VanWINKELHOFF, 1996).

Recentemente tem sido empregada na Odontologia, com grande perspectiva no controle antimicrobiano, para promover efeitos letais sobre microrganismos e principalmente sobre a doença periodontal (ALMEIDA, 2004) sendo uma eficiente alternativa no tratamento de infecções microbianas, um problema agravado por um aumento difuso comum de resistência antibiótica microbiana (ALMEIDA, 2008).

Tal princípio, embora inicialmente proposto e muito explorado pela terapia oncológica, ainda é pouco utilizado na área odontológica (ALMEIDA, 2004; ESPINOSA, 1999; SILVA NETO, 2004; NÓBREGA, 2005).

Desta forma a terapia fotodinâmica tem sido temas de muitos estudos (ALMEIDA, 2006) e uma nova aproximação, podendo ser uma alternativa para métodos terapêuticos convencionais (PFITZNER et al., 2004).

Assim os Fotossensibilizadores são substâncias capazes de absorver a luz e para o sucesso da terapia devem apresentar picos de absorção coincidentes ou muito próximos ao espectro de emissão das luzes utilizadas, são caracterizados pela sua habilidade de absorver luz visível.

Em função do fato de absorverem luz com elevada eficiência, em alguma região do espectro visível, alguns desses compostos são capazes de induzir ou participar de reações fotoquímicas (MACHADO, 2000).

É sabido que muitos corantes apresentam poder antibacteriano, sendo que este é amplificado com a presença de radiação a laser (IGNÁCIO, 2007).

Desde o início do século, tem-se discutido o emprego de fotossensibilizadores como drogas (MACHADO, 2000). Inúmeros agentes fotossensibilizadores tem sido utilizados como agentes terapêuticos, como é o caso: Azul de toluidina O, cristal violeta, (violeta de genciana), fitalocianina dissulfonada de alumínio, Hematoporfirinas, Tionina, Protoporfirina, azul de metileno, Eosina (ALMEIDA, 2006), Verde de malaquita (FERNANDES, 2007), Porfirinas, Fenotiazinas, Cianina, Acridina, Corantes fitoterápico, Clorinas, (clorina e6), BLC1014, BLC1010.

Os fotossensibilizadores devem abranger algumas condições ideais como: ser quimicamente puro e de composição conhecida, apresentar a propriedade de reter-se preferencialmente ao tecido alvo, baixa toxicidade quando em ausência de luz, apresentar toxicidade apenas quando em fotoativação, gerar oxigênio singleto ou superóxido quando ativado (IGNÁCIO, 2007).

Como a maioria das espécies bacterianas não apresenta componentes fotossensíveis a utilização de um fotossensibilizador que atrai para si a luz e inicia a fotoação de radicais livres é importante (WILSON et al., 1992).

Assim células desprovidas de componentes fotossensíveis endógenos podem se tornar sensíveis à luz se forem corados com fotossensibilizadores ou agentes cromóforos exógenos.

No entanto a habilidade de um componente em absorver uma luz incidente não significa necessariamente que ele possa atuar como um fotossensibilizador, para produzir efeito antimicrobiano os fotossensibilizadores devem apresentar picos de absorção próximos ao comprimento de onda utilizada e não devem apresentar danos tóxicos ao hospedeiro (WILSON et al.1992; FERNANDES, 2007).

De acordo com Colussi et al. 1996, para que um composto químico possa atuar como FS (Um composto químico, para ser aplicado em PDT) , deve apresentar propriedades específicas tais como capacidade de ser solúvel e estável em solução aquosa a pH fisiológico, permitindo sua circulação no meio celular, ter habilidade para o transporte passivo ou ativo dentro das células, possuir facilidade para absorver ou emitir fótons (alto rendimento quântico), não ser tóxico a níveis terapêuticos (biocompatibilidade).

Alguns compostos químicos corantes têm sido avaliados quanto a suas capacidades fotossensibilizadoras em microrganismos, como as fenotiazinas (azul de toluidina e azul de metileno), as cianinas (indocianina verde), os fitoterápicos (azuleno) e as ftalocianinas. Os compostos derivados da hematoporfirina (do inglês, *haematoporphyrin derivative* ou HpD) são FS amplamente utilizados para o tratamento de câncer com PDT, e entre eles destacam-se o Photofrin®, o Photogem® e o Photosan®.

Os derivados de hematoporfirina, são uma combinação de fotossensibilizadores oligoméricos derivados do sangue, e foram os primeiros agentes a receberem aprovação do FDA para aplicação clínica da PDT.

Os primeiros experimentos documentados em seres humanos usando fotossensibilizadores datam de 1913, quando Meyer-Betz auto-injetou hematoporfirina e pode observar a formação de edema em áreas expostas à luz (PINHEIRO; BRUGNERA JÚNIOR, 1998).

Novos agentes estão sendo estudados procurando se estabelecer maior grau de absorção em comprimentos de onda de 650 a 850 nm, permitindo assim maior penetração da luz.



Dentre eles citam-se os derivados das porfirinas e clorinas, purpurinas, benzoporfirinas, fitalocianinas, naftocianinas, cristal de violeta, azul de toluidina O e azul de metileno (LIMA, 2004).

Importante relato foi realizado por Shackley et al. (1999). Segundo cada agente fotossensibilizador possui seu espectro de ação e a luz deve ser aplicada no comprimento de onda de máxima absorção. Clinicamente, esse comprimento de onda varia entre 420 nm (azul) e 780 nm (infravermelho) (NÓBREGA, 2005).

O azul de toluidina é um corante catiônico metacromático, da família do grupo das tiazinas que cora seletivamente grupos ácidos de componentes teciduais (WEISSMAN et al., 1952; RICHART, 1963; LIMA, 2004).

Rocha (1996) et al. relatam que o Azul de Toluidina-O (TBO) vem sendo utilizado há mais de três décadas para evidenciação clínica de neoplasias malignas epiteliais (NÓBREGA, 2005).

O azul de toluidina como agente terapêutico foi usado pela primeira vez em 1949, no tratamento de desordens hemorrágicas.

Em pesquisa na literatura no que se refere ao uso da droga o Azul de Toluidina-O como agente terapêutico, observamos sua utilização basicamente em duas frentes de pesquisa, Estomatologia no auxílio de diagnóstico e Terapia fotodinâmica letal, ou seja, sua aplicação na viabilidade bacteriana (LIMA, 2004).

O azul de metileno (tetra-metil-tionina-clorídrica) apresenta peso molecular de 391,84, cor azulmetálica, hidrofílico com espectro de absorbância de 660 nm e, este corante é o mais importante representante dos corantes tiazínico tendo sido usado clinicamente para corar células (SCHIMIDT et al., 1991).

Relatos encontrados na literatura demonstram que o azul de metileno foi utilizado com coadjuvante no tratamento de diferentes patologias, face suas propriedades ansiolíticas e antidepressivas (EROGLU; CAGLAYAN, 1997; OLIVEIRA; GUIMARÃES, 1999), capacidade de inativação de vírus sobre suspensão de células vermelhas (SKRIPCHENKO et al., 1997) e capacidade de ativar o efeito fotobactericida sobre diferentes microrganismos (WAINWRIGHT et al., 1999; USACHEVA et al., 2001; YILMAZ et al., 2002; CHAN; LAI, 2003; ALMEIDA, 2004).

Para o uso da PDT são utilizadas varias formas de fontes de luz, ambos coerente (Laser) e não-coerente (lâmpadas e diodos luminescentes- LEDs). Ambos os tipos possui suas vantagens e desvantagens (CALIN; PARASCA, 2008).

O LED representa uma nova possibilidade de aplicação de energia luminosa, desenvolvido por meio de recentes evoluções tecnológicas. É uma categoria de fonte de luz fria que emite radiação numa faixa mais ampla do espectro, porém com um comprimento de onda predominante, apresenta uma emissão de luz espontânea, não coerente e com certo espalhamento. Além disso, possui um custo menor e tecnologia mais simples comparada com a dos aparelhos laser, fato este que tornaria a PDT uma prática clinicamente mais acessível (DOVIGO, 2007).

Bactérias inativas através dos efeitos fotodinâmicos pode usar ambos fontes de luz com um spectrum continuo(lâmpadas incandescentes, lâmpadas de arco do xénon,etc.)ou fontes com spectrum em faixas(lâmpadas de descarga do gás ou lâmpadas de vapor metálicas) (CALIN; PARASCA, 2008).

As lâmpadas convencionais incandescentes como as de tungstênio, xenônio e mercúrio, com a evolução da terapia fotodinâmica, foram substituídas por fontes de luz mais potentes, especificamente a luz do laser que pelo fato de que podem levar uma grande densidade de energia (fluência) aos tecidos (j/cm) através de fibras ópticas e com comprimento de onda específico (LIMA, 2004).

Laser é vista como uma fonte de luz ideal para a inativação fotodinâmica de bactérias, devido sua monocromaticidade e coerência.

A monocromaticidade permite irradiação com comprimento de onda exato o qual o fotossensibilizador tem sua absorção máxima.

A coerência oferece a possibilidade entregando a luz através das fibras ópticas nas áreas do corpo contaminadas. (CALIN; PARASCA, 2008).

A vantagem da luz dos lasers, quando comparada a outros tipos de luz, é que trata-se de um eixo monocromático de alta energia, passível de ser focado e facilmente manipulado, além de ser capaz de promover efeitos fotobiológicos específicos.

Parâmetros da irradiação como comprimento de onda, eixo energético, diâmetro de feixe, duração do pulso e tempo de exposição podem ser combinados com as propriedades físicas, químicas e biológicas do tecido alvo para que se obtenham resultados desejáveis (NÓBREGA, 2005).

Os lasers são os sistemas ópticos mais indicados para a fotossensibilização, devido a suas propriedades de monocromaticidade, coerência e alta intensidade. Além disso, a luz de laser pode ser aplicada em regiões de difícil acesso, por meio de fibras ópticas. No entanto, o tratamento de lesões superficiais pode ser realizado com sucesso por meio de irradiação com fontes de luz mais simples. Foi concluído que os desenvolvimentos de sistemas ópticos

com tecnologia simplificada poderão aumentar a aceitação e viabilidade da utilização da PDT entre os clínicos em geral (DOVIGO, 2007).

Lasers são certamente mais testadas do que outras fontes de luz, devido suas vantagens teóricas. Estudos mostram uma boa eficiência em ambas as bactérias gram-positivas e gram-negativas, usando algum fotossensibilizador.

Pesquisadores de reconhecimento mundial como a Profa. Tiina Karu quanto o Prof. Éndre Mester, contribuíram e muito com pesquisas para a utilização do Laser de baixa intensidade na clínica.

A terapia tem seu início quando a molécula do fotossensibilizador absorve a luz que irradia e sai do seu estado fundamental migrando para um estado mais energético, porém menos estável, chamado de estado singleto. Devido a grande estabilidade deste nível de energia, a molécula tem um tempo de vida muito curto e tende a voltar para um nível de energia mais baixo ou mesmo para seu estado inicial.

Nessa transição, o excesso de energia pode ser transferido ao substrato de várias formas: por meio de fluorescência, onde o fotossensibilizador emite energia em forma de fótons, por conversão interna ou também pode passar a um nível de energia intermediário, este nível intermediário chamado de estado tripleto, entre o estado fundamental e o singleto, apresenta um tempo de vida um pouco mais longo. Este decaimento energético pode excitar outros componentes do meio, interagindo bem com a molécula de oxigênio e gerando rapidamente formas tóxicas à célula, como peróxidos, radicais hidroxila, íons superóxidos e oxigênio singleto, este último sendo apontado como maior causador de dano celular (CARGNELUTTI, 2007).

Uma estreita relação entre absorção do corante e comprimento de onda utilizado deve ser observada na utilização da terapia fotodinâmica, pois a ação fotoquímica só ocorre quando uma série de parâmetros é estabelecida. A presença do fotossensibilizador e da irradiação por fonte de luz apropriada geram o efeito iniciador da terapia fotodinâmica. A banda de absorção do fotossensibilizador deve ser ressonante com a radiação emitida, absorvendo bem o comprimento de onda emitido (PRATES, 2005).

Essas reações podem também aumentar a angiogênese nos tecidos, o que proporciona mais oxigênio na área (BENSTED; MOORE, 1989; FERNANDES, 2007).

Desta forma a PDT promove a sensibilização letal bacteriana de forma mais efetiva sobre bactérias Gram-positivas, enquanto as bactérias Gram-negativas são mais dificilmente sensibilizadoras, além de apresentarem baixa permeabilidade da membrana celular bacteriana aos compostos externos de antibióticos (FERNANDES, 2007).

A ação bactericida desta nova opção terapêutica tem sido evidenciada em diferentes microrganismos e vários estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* mostram resultados satisfatórios usando a PDT provocando morte de bactérias periodontopatógenos e não periodontopatógenos (ALMEIDA, 2008), tais como: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*(A.a.), *Bacteróides forsythus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermoides*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Hemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Cândida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii*, *Prevotella denticola*, *Eubacterium sp*, bastonetes Gram negativos capnófilos, *Tannerella forsythensis*(T.f.), *Treponema denticola*(T.d.), *Peptostreptococcus micros*(P.m.), *Campylobacter rectus*(C.r.), *Eubacterium nodatum*(E.n.), *Eikenella corrodens*(E.c.), *Capnocytophaga species*(C.e.).

### 3. d. Pesquisa *in vitro*

De acordo com os pesquisadores Dobson e Wilson (1992), estudaram a ação do laser He-Ne (7.3 mW/632.8 nm/1.3 mm) associado a vários FSs sobre biofilmes de *Streptococcus Sanguinis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Os biofilmes foram cultivados em placas de Petri contendo meios de cultura específicos, e várias substâncias corantes foram adicionadas a esses biofilmes, com o intuito de avaliar a capacidade fotossensibilizadora de cada uma delas, seguido da iluminação com a luz de laser. A análise dos resultados foi realizada por meio do aparecimento de zonas de inibição de crescimento. Para o microrganismo *S. Sanguis* foram utilizados os FSs violeta cristal, azul de metileno, azul de orto-toluidina e azul metálico todos nas concentrações de 0,01% e 0,1%, enquanto para o fotossensibilizante ftalocianina, a concentração utilizada foi de 0,005%. Todos os biofilmes foram irradiados durante 10 ou 60 segundos com a luz do laser de He-Ne. Outro tipo de experimento foi realizado para os quatro microrganismos utilizando a concentração de 0.005% dos seguintes fotossensibilizantes: azul de toluidina, hematoporfirina, HCl, azul de metileno, ftalocianina e hematoporfirina éster, porém durante 10 ou 30 segundos de exposição à luz do laser de He-Ne. Pela análise dos resultados foi verificada a redução no número de microrganismos para as quatro espécies após a utilização de azul de orto-toluidina e azul de metileno, ambos na concentração de 0,005% submetidos à irradiação durante 30 segundos (16,5 J/cm<sup>2</sup>). Os

demais FSs foram efetivos apenas para alguns microrganismos. Devido a estes resultados, os autores sugerem que uma fotoinativação pode ser efetiva para a eliminação de bactérias periodontopatogênicas da placa dental.

Okamoto et al. (1992), investigaram *in vitro*, o efeito antimicrobiano do laser de He-Ne associado a diversos corantes sobre microrganismos patogênicos. Os autores testaram o efeito antimicrobiano do laser de He-Ne quando combinado com dez tipos de corantes (azuis, roxos e verdes) em espectroscopia de absorção atômica, espectroscopia ultravioleta e zona de inibição de crescimento em placas de cultura. Verificaram-se neste estudo os efeitos letais sobre os microrganismos eram efetivos, apenas quando corantes específicos foram utilizados.

Wilson et al. (1993), realizaram um trabalho com culturas *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Essas foram tratadas com fotossensibilizadores e então expostas a luz do laser HeNe com 7,3mW de potencia por 80 segundos. Somente o azul de toluidina O (25 microgramas/mL) e azul de metileno (25 microgramas/mL) associados ao laser foram efetivos na eliminação de todas as bactérias, resultando em uma diminuição significativa na contagem final de números de colônias bacterianas. O laser na ausência de fotossensibilizadores não foi efetivo contra os microrganismos estudados. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica com determinantes agentes fotossensibilizadores foi efetiva na redução de números de bactérias podendo ser utilizado para eliminação de periodontopatógenos em sítios doentes.

Soukos et al. (1996), avaliaram os efeitos da terapia fotodinâmica, *in vitro*, da radiação laser vermelha e do corante azul de toluidina sobre queratinócitos orais humanos, fibroblastos e cultura de *S. sanguis*. O objetivo do trabalho era avaliar se a PDT poderia ser usada no tratamento da doença periodontal, eliminando as bactérias causadoras da mesma, sem provocar danos aos tecidos adjacentes. Os autores concluíram que o uso de baixas concentrações de corante e do laser provocava a morte bacteriana e não reduzia viabilidade celular.

Haas et al. (1997), realizou estudo para avaliar a afirmativa de Wu-Yuan et al. (1995) que relatou que diferentes superfícies de implantes poderá influenciar a aderência do biofilme bacteriano. Frente a esta afirmativa os autores realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a efetividade da terapia fotodinâmica na eliminação de bactérias na superfície de discos de titânio com superfície polida, de hidroxiapatita. Estes discos foram contaminados com as *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, e divisão em quatro grupos experimentais. Grupo 1 recebeu azul de

toluidina na concentração de 100 µg/mL e, após 1 minuto foi irradiado com o Laser diodo com 905 nm de comprimento de onda operando no modo pulsado, com potência de 7,3 mW por um período de 60 segundos. O grupo 2 não recebeu nenhum tipo de tratamento. Já o grupo 3 recebeu irrigação somente com soro fisiológico por 1 minuto e subsequente aplicação do Laser com os mesmos parâmetros do grupo 1 e finalmente o grupo 4 que recebeu tratamento somente com azul de toluidina. Imediatamente após os tratamentos foram coletadas amostras e então realizaram exame de cultura. As superfícies tratadas apenas com azul de toluidina e Laser isoladamente os autores não observaram diminuição nas culturas bacterianas e culturas negativas foram observadas apenas com a combinação do Laser e azul de toluidina. Os autores concluíram os seus estudos afirmando que a terapia fotodinâmica resultou na morte bacteriana podendo ser utilizada no tratamento da periimplantite apresentando a vantagem de não alterar a superfície dos implantes além de apresentar os mesmos resultados, independente da superfície do implante analisada.

Ferreira (2001), com objetivo de avaliar a ação letal do Laser, de drogas fotossensibilizadoras e da associação de ambos, foram utilizados *Actinomyces naeslundii*, *Prevotella denticola*, *Eubacterium sp*, bastonetes Gram negativos capnófilicos e *Streptococcus sanguis*. Estes microorganismos após cultura foram irrigados com solução de azul de toluidina-O e azul de metileno com concentrações final de 50 µg/mL, com aplicação ou não do Laser de diodo semiconductor por 60 e 120 segundos, depositando uma densidade de energia de 150 J/cm<sup>2</sup> e 300 J/cm<sup>2</sup>. Após tratamento frações de 100 µl foram coletadas e mantidas em cultura de anaerobiose. A contagem das colônias crescidas possibilitou concluir que o uso isolado do Laser em baixa intensidade e de drogas fotossensibilizadoras, não promoveram alterações significativas na viabilidade de microorganismos bucais, diferenças estatisticamente significante foram evidentes quando se utilizou a associação do Laser com droga fotossensibilizadora, com efeitos mais diferenciados nas amostras tratadas com azul de toluidina-O, quando comparada com o azul de metileno não importando o tempo de exposição ao Laser.

Usacheva et al. (2001), avaliou a eficácia do azul de metileno e do azul de toluidina O na fotossensibilização letal de microorganismos patogênicos utilizaram estes corantes em diversas concentrações sendo: 10, 20, 30 40, 50, 100, 150, 200 µM em diferentes bactérias como: *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pneumoniae*; *Enterococcus faecalis*; *Hemophilus influenzae*; *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginos*. Os autores utilizaram o Laser de Argônio com comprimento de onda de 630 nm e o Laser diodo de comprimento de onda de 664 nm com fluência variando de 10 e 60 J/cm<sup>2</sup> e variando a intensidade de

potência de 50 a 100 mW/cm<sup>2</sup>. Os resultados obtidos pelos autores indicaram que todos os microorganismos foram eliminados em algum grau quando expostos ao Laser na presença dos corantes. No entanto, a fotossensibilização dependeu do corante utilizado, sua concentração, fluência e intensidade de potência, bem como da espécie bacteriana envolvida. Na ausência da luz o azul de toluidina O mostrou-se mais efetivo quando comparado com o azul de metileno na morte de células bacterianas. O aumento da efetividade do corante em proporcionar morte bacteriana está relacionado com o tempo de contato e concentração.

Matevski et al. (2003), realizaram um estudo para avaliarem se alguns destes fatores externos que podem ter influência nos resultados a serem obtidos pela terapia fotodinâmica. A fotossensibilização letal foi analisada “*in vitro*” em culturas de bactérias periodontopatogênicas como as *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associadas ao sangue ou ao soro fisiológico simulando o fluido gengival, tendo como fonte de luz o Laser de He-Ne 635 nm e lâmpada de xenônio com filtro vermelho. A droga fotossensibilizadora utilizada foi o azul de toluidina O, nas concentrações de 12,5 µg/mL e 50 µg/mL. Os autores puderam observar redução na concentração destas bactérias, quando a terapia fotodinâmica foi realizada com as duas fontes de luz com exceção apenas para o *Bacteroides forsythus* que apresentou um aumento quando exposto a terapia fotodinâmica tendo a luz de xenônio como fonte de luz. Puderam observar também que os resultados obtidos com a lâmpada de xenônio e com o Laser de He-Ne foram semelhantes quando usaram os parâmetros de 12,5 µg/ml de azul de metileno com dose de 10 J/cm<sup>2</sup>. Os autores concluíram o estudo relatando que a terapia fotodinâmica tem seu efeito afetado negativamente pela presença de sangue e fluido gengival, pois estes podem refletir ou absorver a luz, atuando desta forma como uma barreira protetora às bactérias interferindo na ação tanto do Laser como do corante.

Matevski et al. (2003), investigaram o potencial de uma fonte de luz convencional, uma lâmpada de Xenônio, em combinação com TBO, e compararam a efetividade desse tratamento na supressão de *P. gingivalis* com o tratamento com laser de He-Ne *in vitro*. O tratamento com a dose energética de 2,2 J/cm<sup>2</sup> e concentração de 50 µg/ml de TBO resultou em morte bacteriana de  $2,43 \pm 0,39$  com o grupo controle (laser He-Ne), a  $3,34 \pm 0,24$  com a lâmpada de Xenônio. Foi observado que existia uma relação linear entre a dose de luz e o efeito antibacteriano. Os resultados levaram os autores a concluir que, *in vitro*, a PDT, utilizando uma fonte de luz convencional, foi mais efetiva que a luz laser.

Chan e Lai (2003), avaliou os questionamentos na literatura dos parâmetros como, dose e tipo de droga fotossensível, que alteram os resultados da terapia fotodinâmica, realizaram um estudo em que avaliaram o efeito do Laser de He-Ne, com potência de 30 mW e comprimento de onda de 632,8 nm e do Laser diodo de AsGaAl, com potência de 100 mW e comprimentos de onda de 665 nm e 830 nm, tendo como corante o azul de metileno na concentração de 0,01% peso/volume, na viabilidade de bactérias periodontopatogênicas. As bactérias utilizadas pelos autores foram as *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermédia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Streptococcus sanguis* as quais foram mantidas em meio de cultura anaeróbico com posterior quantificação e diluição para posterior teste. O Laser de He-Ne foi utilizado por 30 e 60 segundos, depositando nos microorganismos uma densidade de energia de 3,2 J/cm<sup>2</sup> e 6,4 J/cm<sup>2</sup>. Já o Laser de diodo depositou uma densidade de energia de 10,6 J/cm<sup>2</sup> e 21,2 J/cm<sup>2</sup>. A distância de 5 mm da fibra as amostras foram mantidas constantes. Os resultados deste estudo mostram que o tratamento somente com o azul de metileno não causou redução significativa na morte de todas as bactérias utilizadas no experimento, demonstrando que o azul de metileno na concentração de 0,01% peso/volume, não foi tóxico. Similarmente, a irradiação com o Laser He-Ne, não apresentou resultados significantes na morte bacteriana. Em contraste, a exposição ao Laser diodo em ambos os comprimentos de onda com densidade de energia de 10,6 J/cm<sup>2</sup>, resultou em significativo declínio das colônias bacterianas. A terapia foi tempo dependente para ambos os sistemas de Laser, porém o Laser diodo de 830 nm foi o mais efetivo e a exposição por 60 segundos com densidade de energia de 21,2 J/cm<sup>2</sup>, promoveu a morte de 99-100% das bactérias pigmentadas (*Porphyromonas. gingivalis. e Prevotella intermédia*) e *S. sanguis*. Já para as espécies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Fusobacterium nucleatum*, este tipo de tratamento promoveu a morte de 95 e 96% respectivamente. Os autores concluíram o estudo relatando que a terapia fotodinâmica apresenta a vantagem de ser uma terapia aplicada topicamente no interior da bolsa, sem o perigo dos efeitos indesejáveis de uma droga administrada sistemicamente e que a morte de microorganismos pode ocorrer quando são utilizados parâmetros adequados.

Shibli et al. (2003), realizaram um estudo piloto, por teste de cultura, da efetividade da fotossensibilização letal sobre os microrganismos envolvidos na periimplantite em cães. Após dois meses de indução da periimplantite em cães as ligaduras foram removidas e controle de placa com clorexidina a 0,12%, foi adotado por 12 meses. Decorrido este período retalho mucoperiósteo foi elevado e amostras foram coletadas com cones de papel



antes e após tratamento da superfície do implante com 100 µg/mL de azul de toluidina-O e subsequente aplicação do Laser de diodo semiconductor de Arseneto de Gálio e Alumínio com comprimento de onda de 685 nm por 80 segundos. Os autores obtiveram redução e eliminação, em algumas amostras, de patógenos da periimplantite em cães, principalmente nas espécies *Prevotella intermédia*, *Fusobacterium ssp* e *Streptococcus*. Relatam também que esta abordagem adotada para promover a fotossensibilização letal a patógenos periodontais apresenta vantagens como não desenvolver a seleção de microorganismos resistentes, utilizados em baixas concentrações e de fácil aplicação.

Gad et al. (2004), relatam em seus estudos que a emergente resistência antimicrobiana entre bactérias patogênicas, tem levado muitos pesquisadores a buscarem alternativas para a substituição das terapias antimicrobianas por terapias capazes de promoverem a morte bacteriana sem causarem a seleção de bactérias resistentes. Uma alternativa pode ser dada pela terapia fotodinâmica sendo que muitas infecções locais em animais apresentam resultados satisfatórios, no entanto os fatores que governam esta morte não são conhecidos, porém podem ter os resultados alterados pela inativação da terapia pela presença de exotoxinas produzidas pelas bactérias. Quando analisaram o efeito de corantes catiônicos (azul de metileno) ativados pelo Laser com 665 nm de comprimento de onda e 40 J/cm<sup>2</sup> de densidade de energia depositada em *Staphylococcus epidermoides* e *aureus* com alterações na cápsula e na produção de exotoxinas. Os autores relataram que os resultados obtidos indicaram alterações na morte celular em virtude da produção de exotoxinas, que pode ser um obstáculo para a terapia fotodinâmica e que corantes catiônicos podem superar o efeito negativo da presença de exotoxinas quando associados ao Laser.

Pfitzner et al. (2004), em seus estudos avaliaram a eficácia dos fotossensibilizadores clorina e6, BLC1010 e BLC1014, utilizados na concentração de 10p.M, utilizando como fonte de luz o laser de diodo de 662 nm com potência máxima de 4W. As amostras foram irradiadas com duas diferentes densidades de energia: 5,3J/cm<sup>2</sup> e 20,1J/cm<sup>2</sup>. Os autores concluíram o estudo que os fotossensibilizadores clorina e6 e BLC1010 apresentam resultados positivos na redução de microorganismos periodontopatogênicos.

Drulis-Kawa. et al. (2005), relatou que o efeito sensitizer de Fotolon do composto de clorin e6 e polivinilpirrolidone (PVP) contra bactérias anaeróbias isoladas da doença periodontal. Resultou em 99.9% de redução em unidades formadoras de colônias em 20 gram positivas e 30 gram negativas foram obtidos em anaeróbias clinicas.

Zanin (2006), constatou que o *Streptococcus mutans*, o *S. sobrinus* e o *S. sanguinis*, quando em tratamento a laser com comprimento de onda de 630 nm com o agente

fotossensibilizador TBO - orto azul de toluidina à 0,1 mg/ml, agente capaz de inativar proteases bacterianas e obteve os seguintes resultados: redução de 95% para biofilmes de *S. mutans* e *S. sobrinus* e redução de 99,9% sobre o *S. sanguinis*.

Krechina et al. (2006), avaliou a ação da terapia fotodinâmica com o gel do photoditasine de 1% em cima do hemo-microcirculação e a troca do oxigênio no tratamento da doença periodontal. A terapia fotodinâmica aumentou a circulação sanguínea capilar por 20-46% e a sua intensidade por 18-64% que promoveu a normalização trófica de tecidos periodontais e melhorou os mecanismos regulamentares da circulação sanguínea do tecido no sistema microcirculatorio realçando a atividade myogenic do microvessel que circulação sanguínea normalizada do tecido e congestão venosa reduzida em tecidos gengivais, oxigenação aumentado dos tecidos gengivais por 21-47%, diminuídos o tempo e velocidade da entrega e da utilização do oxigênio que normalizam assim o metabolismo do oxigênio em tecidos periodontais. De acordo com os dados da espectroscopia fluorescente em caso da terapia fotodinâmica que conduz o foi estabelecido que o tempo máximo da aplicação do gel do photoditasine de 1% é 8-10 minutos. A densidade da baixa radiação de laser intensiva no regime contínuo variou de 80 a 100 J/cm (2) dependendo da severidade da inflamação no periodonto.

Prates et al. (2007), objetivou testar a capacidade do verde de malaquita combinado ao laser vermelho de baixa potência, em inativar o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em suspensão e também a degradação do verde de malaquita após irradiação, realizaram trabalho expondo a cultura da referida bactéria aos seguintes tratamentos: grupo1 recebeu aplicação do corante em uma concentração de 0,01% por 5 min; grupo 2, aplicação do corante por 5 min associado a aplicação do laser por 3 min, com uma energia de 5,4 J/cm<sup>2</sup>; e grupo 3, aplicação do corante seguido do laser por 5 min, totalizando uma energia de 9 J/cm<sup>2</sup>. O verde de malaquita tinha uma concentração de 0,01% e o laser 30 mW de potência. O espectro de absorção para os três grupos foi obtido juntamente com a contagem do número de bactérias. Os resultados mostraram que o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foi inativado somente nos grupos 2 e 3, onde a terapia fotodinâmica foi realizada e que este corante foto degrada-se após irradiação.

Yamada Jr. (2007), avaliou a atividade antibacteriana *in vitro* a ação da PDT com diferentes parâmetros de irradiação sobre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) foram utilizadas suspensões de Aa selvagens para avaliação diferentes parâmetros de irradiação na busca de otimizar a redução bacteriana. Os resultados microbiológicos do estudo *in vitro* apresentaram efetividade de 98,4% na morte de colônias de Aa, quando

irradiados com energia de 5,4 J e 99,9% quando irradiados com energia de 9 J. Os autores concluem o estudo sugerindo que a PDT pode ser uma alternativa promissora como método coadjuvante ao tratamento periodontal.

### **3.e. Pesquisa in vivo**

#### 3. e. 1. Animais

Os modelos animais têm sido bastante utilizados em estudos experimentais em razão da dificuldade de estudar a patogênese da doença periodontal em humanos (LISTGARTEN, 1975) e forma de tratamento da doença periodontal, assim a utilização de modelos experimentais em animais é largamente utilizado. Os ratos apresentam muita semelhança ao homem em relação à anatomia periodontal, desenvolvimento e composição do biofilme bacteriano, histopatológica das lesões periodontais imunologia básica.

Machado (1999), apresentou uma revisão da literatura a respeito dos princípios e potenciais de aplicações da PDT. De acordo com o autor, essa modalidade terapêutica tem sido aplicada com sucesso no tratamento de tumores, por meio da inativação celular do tecido neoplásico. Alguns estudos têm avaliado a possibilidade da sua aplicação em outras condições clínicas, como a inativação de microrganismos patogênicos. A inviabilização celular promovida pela PDT é resultado de uma reação que decorre primariamente da excitação eletrônica do FS pela luz, seguida da formação de espécies reativas de oxigênio (oxigênio singlete). A primeira geração de agentes FS, baseada em misturas de derivados porfirínicos, tem sido efetiva no tratamento de diversos tipos de tumores. Uma outra classe de FSs são os endógenos, baseados na administração por via oral ou mesmo uso tópico do ácido  $\delta$ -aminolevulínico. Esse ácido é um precursor metabólico da protoporfirina IX, um composto fotodinamicamente ativo. Em vários países, o emprego da PDT como terapia anti-câncer já foi autorizado, como os Estados Unidos, França, Holanda, Canadá e Japão. No entanto, a PDT tem mostrado o seu grande potencial no que concerne a outras moléstias, como a psoríase, arteriosclerose, degeneração macular da retina e remoção de verrugas na laringe. Além disso, também vem sendo obtida a destruição de infestações bacterianas resistentes a tratamentos convencionais e descontaminação de sangue. O autor concluiu que

as pesquisas na área de PDT estão promovendo um acentuado desenvolvimento dessa nova modalidade terapêutica em outras áreas médicas, tornando-a uma prática segura e viável.

Kömerik et al. (2002), avaliaram o efeito adverso do Laser na mucosa de ratos na presença do azul de toluidina O em várias concentrações e avaliaram também a penetração do corante no tecido. O azul de toluidina foi utilizado na concentração de 25, 50 e 200  $\mu\text{g/mL}$ . O Laser diodo utilizado pelos autores apresentava-se com comprimento de onda de 633 nm, com potência de 100 mW. A mucosa recebeu 25  $\mu\text{L}$  do corante e posterior aplicação do Laser com uma fibra ótica de 6 mm de diâmetro e, o lado oposto da mucosa foi tido como controle negativo. Os grupos experimentais foram compostos pela combinação de 25  $\mu\text{g/mL}$  do corante com densidade de energia de 110  $\text{J/cm}^2$  resultando em um tempo de exposição de 5 minutos; 50  $\mu\text{g/mL}$  do corante com densidade de energia de 170  $\text{J/cm}^2$  resultando em um tempo de exposição de 8 minutos e 200  $\mu\text{g/mL}$  do corante com densidade de energia de 340  $\text{J/cm}^2$  resultando em um tempo de exposição de 16 minutos. Os autores também avaliaram o efeito isoladamente do Laser e do corante. Após 3 dias do referido tratamento os animais foram sacrificados para análise histológica e para avaliação da distribuição do corante no tecido foi utilizado o método de fluorescência dos tecidos e para esta avaliação os animais foram sacrificados 1 minuto e 10 minutos da aplicação do corante. Os resultados obtidos indicam que nenhum animal apresentou-se com estresse em todo o período experimental e quando avaliaram a mucosa, nenhum animal em nenhum grupo experimental apresentou-se com alterações na mucosa. Ao avaliarem histologicamente não observaram em nenhum grupo alterações nas fibras musculares, tecido conjuntivo e epitélio. Não observaram também alterações nos vasos sanguíneos, necrose tecidual e processo inflamatório presente. Na avaliação da distribuição do corante usado na concentração de 200  $\mu\text{g/mL}$  por 10 minutos presente no tecido epitelial e no tecido conjuntivo os níveis apresentaram-se baixos compatíveis com os índices do lado controle. O tecido queratinizado apresentou-se com altas concentrações do corante e os autores relatam que este tecido influencia de forma significativa a penetração do corante. Quando avaliaram a associação do Laser na penetração do corante puderam observar que o tempo de aplicação influencia a penetração do corante no tecido, sendo, portanto dose dependente. Em camadas mais profundas os autores não encontraram a presença do corante relatando que não seria nenhuma surpresa o tecido conjuntivo não apresentar nenhuma reação a terapia fotodinâmica, relatando ainda que esta terapia seria para o tratamento de infecções superficiais. Os autores concluem o estudo sugerindo que estes resultados obtidos dão

segurança ao uso tópico do azul de toluidina O associado ao Laser na cavidade oral para o tratamento de infecções tópicas localizadas.

Kömerik et al. (2003), realizaram um estudo para avaliarem a efetividade da terapia fotodinâmica na viabilidade de microorganismos. Os autores utilizaram *P. gingivalis* da linhagem W50, as quais foram inoculadas no interior da cavidade oral de ratos. Imediatamente a inoculação de 25 µl de *P. gingivalis*, na região dos molares superiores foi administrado topicamente azul de toluidina nas concentrações de 0,01, 0,1 e 1 mg/ml. Como fonte de luz os autores utilizaram o Laser diodo de 630 nm depositando na área doses de 6, 12, 24 e 48 Joules correspondendo aos tempos de 1, 2, 4 e 8 minutos. Na análise histológica dos resultados os autores não observaram nenhuma alteração nas estruturas do periodonto como, ulcerações e inflamação no tecido conjuntivo, mesmo nas concentrações mais altas tanto do corante quanto do Laser utilizado. Quando analisaram o comportamento dos animais os autores não evidenciaram alterações comportamentais nos animais. Ao analisarem radiograficamente a região dos molares superiores não foi observada diferença estatisticamente significativa na perda óssea alveolar quando utilizaram 0,01 mg/ml do corante associado ao Laser com 48 J. Na análise morfométrica observou-se redução significativa da perda óssea alveolar quando utilizaram 0,1 e 1 mg do corante associado ao Laser com 48 J de potência, quando comparado com o grupo controle que não receberam nenhum tratamento, somente a inoculação das bactérias. Quando utilizaram apenas o corante ou o Laser, independente da concentração ou dose utilizada, os autores não observaram redução significativa da perda óssea alveolar. Os resultados radiográficos foram semelhantes a análise morfométrica exceto quando utilizou-se 1 mg/ml do corante na ausência do Laser o que resultou em significativa redução da perda óssea alveolar. Foi observada diferença significativa entre o grupo controle e os animais tratados com 0,1 mg/ml e 1 mg/ml do corante associado ao Laser com 48 J de potência. Os autores concluíram seus estudos relatando que a terapia fotodinâmica tendo como corante o azul de toluidina, promoveu fotossensibilização letal em um importante periodontopatógeno presente na bolsa periodontal, sem causar danos aos tecidos adjacentes e a perda óssea alveolar foi significativamente menor nos ratos tratados com a terapia fotodinâmica, sendo uma terapia antimicrobiana alternativa para o tratamento da doença periodontal.

Almeida (2004), avaliou histologicamente, o efeito da PDT na progressão da doença periodontal induzida em ratos. Realizou-se a adaptação de uma ligadura na margem gengival do primeiro molar inferior esquerdo de 120 ratos, que foram então divididos em 4 grupos: grupo I, não recebeu nenhum tipo de tratamento, somente a inserção da ligadura;

grupo II, tratamento com aplicação tópica de azul de metileno (100 µg/ ml) dois dias após a adaptação da ligadura; grupo III, recebeu tratamento com laser em baixa intensidade dois dias após a inserção da ligadura; e grupo IV, que recebeu aplicação tópica de azul de metileno (100 µg/ ml) seguido da aplicação do laser em baixa intensidade dois dias após a inserção da ligadura. O laser utilizado no experimento foi o diodo de AsGaAl (685 nm, 50 mW, 120 segundos e 4.5 J/ cm<sup>2</sup>). Decorridos 5, 15 e 30 dias os animais foram sacrificados. Os resultados indicaram diferença no nível de inserção do ligamento periodontal entre os grupos I e III, grupos II e III, e entre os grupos III e IV no período de 15 dias. Dentro dos limites do estudo, o autor concluiu que nenhum dos tratamentos influenciou na progressão da doença periodontal induzida no período de 5 dias; o tratamento com laser reduziu o nível de inserção do ligamento periodontal e aumentou a resposta inflamatória no período de 15 dias; a terapia fotodinâmica foi mais efetiva que o laser somente no período de 15 dias; e que a terapia fotodinâmica não foi efetiva no tratamento da doença periodontal induzida em ratos. Diante do exposto, podemos observar que a terapia fotodinâmica tem se mostrado efetiva, tanto no que se refere à redução bacteriana, como ferramenta coadjuvante no reparo tecidual.

Meisel e Kocher (2004), em revisão do estado da arte na terapia fotodinâmica para doenças periodontais, concluíram que mesmo ainda em estágios experimentais, a PDT poderá ser um coadjuvante importante às técnicas convencionais no controle bacteriano das doenças periodontais e que estudos clínicos são necessários para confirmar a eficácia deste procedimento.

Hayek et al. (2005), compararam os efeitos da terapia fotodinâmica (PDT) com a técnica convencional na redução microbiana de peri-implantites induzidas por ligaduras em cães. Dezoito terceiros pré-molares de nove cães foram extraídos e implantes foram posicionados. Após a osseointegração, peri-implantites foram induzidas através de ligaduras. Após quatro meses, as ligaduras foram removidas e a flora bacteriana normal foi estabelecida por outros quatro meses. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos. No grupo convencional, as peri-implantites foram tratadas com retalhos mucoperiostais para realizar a raspagem das superfícies dos implantes, e a seguir as áreas foram irrigadas com clorexidina a 0,12%. No grupo da PDT, após o retalho mucoperiostal as áreas foram tratadas com PDT (Pasta-base de Azul de metileno O foi aplicado e o Laser de baixa potência AsGaAl – 660 nm, P: 40 mW, E: 7,2 J) posteriormente. As amostras microbiológicas foram obtidas antes e imediatamente após os tratamentos. Inicialmente um implante foi removido e analisado fazendo a varredura por microscópio para avaliar a

contaminação. Os resultados deste estudo mostraram que a *Prevotella sp*, *Fusobacterium SP* e a *S. Beta-haemolyticus* foram reduzidas significativamente para ambos os grupos após o tratamento e nenhuma diferença pode ser observada entre os grupos. Concluiu-se que a terapia fotodinâmica é um método que poderia ser usado para reduzir microrganismos em peri-implantites.

Sigusch et al. (2005), realizaram pesquisa cujos alvos eram encontrar alternativas aos métodos convencionais para suprimir bactérias periodontopatogênicas. No presente estudo, o método da PDT foi testado com dois fotossensibilizadores (Cloro e6 e BLC 1010), em uma experiência realizada em cães. Os animais foram infectados com *Porphyromonas gingivalis* (Pg) e *Fusobacterium nucleatum* (Fn) em áreas subgingivais. Após a infecção, eles observaram sinais clínicos de inflamação gengival, incluindo um aumento do edema e do sangramento após sondagem. Monitoramento microbiológico antes e depois do tratamento foi executado. PDT foi conduzida com um Laser de Diodo (662 nm e 0.5 W de potência) e os fotossensibilizadores. O procedimento da PDT com os dois tipos de fotossensibilizadores causaram uma significativa redução na inflamação, quando comparado com o controle feito somente com o Laser. Além disso, a PDT com Cloro e6 causou uma notável redução em *P. gingivalis* visto que havia uma falta na supressão depois da PDT com BLC 1010. As amostras de *F. nucleatum* foram reduzidas com o Cloro e6, e somente para uma certa extensão com o BLC 1010 e Laser isoladamente. Com o término deste estudo, os autores concluíram que a terapia fotodinâmica usando um fotossensibilizador e a fonte de luz do Laser (662 nm) demonstra ser efetiva na redução dos sinais clínicos de uma doença periodontal como edema e sangramento durante sondagem. O procedimento oferece também significativamente supressão de *P. gingivalis*.

Almeida et al. (2007), avaliaram histologicamente e radiograficamente o efeito da terapia fotodinâmica (PDT) na progressão da doença periodontal induzida em ratos. Foi adaptada uma ligadura de algodão na margem gengival do primeiro molar inferior esquerdo de cento e vinte ratos. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=30): Grupo I: nenhum tipo de tratamento realizado, somente a presença da ligadura; Grupo II (MB): tratamento com aplicação tópica de azul de metileno (100 µg/mL) dois dias após adaptação da ligadura; Grupo III (LLT): tratamento com Laser em baixa intensidade dois dias após adaptação da ligadura e Grupo IV (PDT): tratamento com aplicação tópica de azul de metileno (100 µg/mL) seguido da aplicação do Laser em baixa intensidade dois dias após adaptação da ligadura. A superfície mesial dos dentes no Grupo III e IV foram irradiados com o Laser de diodo de AsGaAl, com 685 nm (50 mW, 120 s, 4.5

J/cm<sup>2</sup>). Todos os grupos foram subdivididos em subgrupos (n=10) e sacrificados nos períodos de 5, 15 e 30 dias de pós-operatório. O estudo radiográfico foi realizado medindo a distância da crista óssea à união cimentoesmalte na face mesial dos molares. Através de um sistema de escores, vários parâmetros foram utilizados para avaliar o tecido conjuntivo, ligamento periodontal, superfície radicular e tecido ósseo histologicamente. Os resultados radiográficos indicaram uma preservação significativa de tecido ósseo nos animais tratados pela terapia fotodinâmica nos períodos de 7 e 15 dias. Em 15 dias os resultados histológicos demonstraram uma diferença significativa na extensão da reação inflamatória no tecido gengival, com uma reação maior de infiltrado inflamatório crônico nos grupos tratados com o laser de baixa intensidade. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica reduziu a destruição periodontal.

Qin (2007), avaliaram *in vivo* a fotossensibilização de bactérias periodontais em ratos e compararam a eficácia com raspagem e alisamento radicular de rotina, foi colocado uma ligadura, elásticos ortodônticos, na região subgengival ao redor do primeiro molar superior de 16 ratos. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos experimentais, grupo I Terapia Fotodinâmica (PDT)(n=8) após seis semanas as ligaduras eram removidas, e a área era embebida com 1mg/mL de azul de toluidina e após 10 minutos a área era exposta por uma fonte de luz laser de diodo de 635nm, 159mw/cm<sup>2</sup>, por 75 segundos, a área de infecção não tratada no lado oposto da boca era usada para controle, grupo II tratamento convencional raspagem e alisamento radicular (n=8), após seis semanas as ligaduras eram removidas, e a área era tratada com raspagem e alisamento radicular e a área do lado oposto servia para controle não recebendo nenhum tratamento. A eficácia terapêutica era avaliada pela evolução de redução de flora bacteriana total e mudanças histológicas nos tecidos periodontais. Para análise da efetividade do tratamento foram realizados coletas de bactérias após 1 mês de tratamento, os resultados das amostras em ambos tratamentos terapia fotodinâmica e tratamento convencional mostrou um pronunciado efeito bactericida e sobrevivência de bactérias de 4% e 4,3% respectivamente comparada com a área de controle, ambos grupos exibiam valores baixos de índice de placa e índice gengival, para sangramento a sondagem valores positivos eram encontrados valores reduzidos, esses dados indicam resultados terapêuticos similares obtidos para ambos tratamentos, as células do infiltrado inflamatório era altamente reduzidas para ambos tratamentos, mostrando que as mudanças histológicas eram similares. Concluímos que azul de toluidina a terapia fotodinâmica (PDT) é efetiva no tratamento da periodontite *in vivo* comparada com raspagem e alisamento radicular, a PDT pode causar fotoinativação letal de



bactérias patógenas periodontais e completa redução de reação inflamatória na gengiva sem detectáveis danos. Assim no presente estudo, concluímos que a terapia fotodinâmica mostrou efeitos terapêuticos similares ao tratamento convencional raspagem e alisamento radicular.

Cargnelutti (2007), avaliou a influência do efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica no processo inflamatório periodontal induzido em hamsters comparando-o à remoção mecânica do biofilme. Foram utilizados 29 hamsters, fêmeas e dois animais foram sacrificados previamente ao experimento para a observação das características histológicas iniciais. A indução foi realizada através de uma dieta rica em carboidratos durante 60 dias. No dia 30, três animais foram sacrificados para a observação das características histológicas após a indução. Vinte e quatro animais foram então divididos em 3 grupos com 8 animais cada: PDT, Controle e Remoção Mecânica (RM). Nos grupos PDT e RM, a terapêutica foi realizada na região de primeiro e segundo molares inferior esquerdo e direito. Para o grupo PDT, foi utilizado o fotossensibilizador azul de metileno 0,01% e laser de AsGaAl ( $\lambda = 660$  nm,  $P=40$ mW) com um tempo de pré irradiação de 1 minuto e tempo de irradiação de 2 minutos com  $D=24,5$  J/cm<sup>2</sup>. Os animais do grupo RM receberam escovação com escova bitufo com 10 movimentos vibratórios 45 graus do dente. Não foi realizado nenhum tratamento no grupo controle. Foram sacrificados dois animais por grupo nos dias 31,38, 45 e 60 dias após o tratamento para a avaliação histológica. Um dia após o tratamento, o grupo PDT apresentou o melhor resultado na redução do processo inflamatório comparado aos outros grupos. Em relação à redução da atividade osteoclástica, o grupo controle manteve presença de osteoclastos durante todo o período experimental enquanto que o grupo PDT e RM apresentaram redução da atividade osteoclástica. Trinta dias após o tratamento, não se observou diferença entre os grupos. Os resultados sugerem que a PDT reduz o processo inflamatório 24 h após o tratamento e que ambas as terapias inibem a atividade osteoclástica 30 dias após o tratamento.

Yamada Jr. (2007), foram utilizados 20 ratos machos, tratados previamente por 5 dias sistemicamente com antibiótico. Após este período, foi realizada a indução da doença periodontal pela adaptação de uma ligadura de algodão embebida em solução de Aa e mantida por um período de 15 dias e divididos em dois grupos de tratamento. Grupo RM: remoção da placa com escova com movimentos vibratórios por 20 segundos; Grupo RM + PDT: mesmo tratamento do Grupo RM associado com a PDT. Para a realização da PDT foi utilizado o azul de metileno na concentração de 0,01% aplicado topicamente no interior da bolsa e após período de 5 minutos as bolsas foram irradiadas com laser de baixa intensidade

( $P=100$  mW;  $t=60$  s e  $E=5,4$  J). Para análise da efetividade dos tratamentos foram realizadas coletas microbiológicas antes do tratamento, imediatamente após e 7 dias para análise de cultura e PCR. Foi obtida uma redução microbiana de 93,5% no Grupo RM+PDT e de 87,7% no Grupo RM. No período de 7 dias após tratamento, foi observada uma recolonização em ambos os grupos. Os dados coletados pelo PCR confirmaram a presença de microorganismos em todas as coletas. Os autores concluem o estudo sugerindo que a PDT pode ser uma alternativa promissora como método coadjuvante ao tratamento periodontal.

Almeida et al. (2008), avaliaram histometricamente a influencia da terapia fotodinâmica na perda óssea em áreas de furca com doença periodontal induzida em ratos. Foi colocado uma ligadura de algodão na margem gengival do primeiro molar inferior de 120 ratos. Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais ( $n=30$ ): Grupo I: grupo controle, somente a presença da ligadura nenhum tratamento realizado, Grupo II (MB): foi realizado o tratamento com aplicação tópica de azul de metileno 100ug/ml, (1mL de solução do fotossensibilizador) dois dias após a adaptação da ligadura, Grupo III: (LLLT): tratamento com Laser em baixa intensidade dois dias após adaptação da ligadura e Grupo IV (PDT): tratamento com aplicação tópica do azul de metileno 1mL seguida de aplicação do laser de baixa intensidade ( $4,5$  J/cm<sup>2</sup>) por 1 minuto dois dias após adaptação da ligadura. A superfície do tecido dos dentes dos Grupos III e IV foram irradiados com o Laser de diodo de AsGaAl, com 685 nm (0,05W, 120 s, 4.5 J/cm<sup>2</sup>). Todos os grupos foram subdivididos em subgrupos ( $n=10$ ) e sacrificados nos períodos de 7, 15 e 30 dias de pós-operatório. O estudo histométrico foi realizado medindo a distancia da área da crista óssea a superfície de cimento da área de furca dos molares. Através da fotomicroscopia- sistemas de análise de imagens - para estabelecer a perda óssea e características do ligamento periodontal na região de furca do primeiro molar. Os resultados histométricos indicam que o Grupo PDT ocorreu menos perda óssea comparada a outros Grupos em 7 dias e 15 dias, o Grupo PDT e MB demonstraram menos perda óssea comparada ao Grupo controle e ao Grupo LLLT. Em 15 dias os resultados histológicos demonstraram que o tecido ósseo era altamente celularizado com denso e regular trabeculado ósseo sem atividade de reabsorção e inserção de fibras colágenas densas no Grupo PDT. Os autores concluem que a PDT deve ser uma alternativa efetiva para o controle de perda óssea em áreas de furca em periodontite.

Almeida (2008), avaliou histologicamente e histometricamente a influencia da terapia fotodinâmica (PDT) como um tratamento adjuvante na periodontite induzida em

ratos com diabetes. 240 ratos foram divididos uniformemente em 2 grupos: não diabéticos ND (n=120) e diabéticos aloxano D (n=120). A doença periodontal foi induzida em ambos grupos no primeiro molar inferior. Depois de 7 dias a ligadura foi removida e todos animais foram submetidos a raspagem e alisamento radicular (SRP) e eram divididos de acordo com o seguinte tratamento: irrigação com solução salina (SRP), irrigação com corante fenotiazinium (100 µg/mL) (TBO), irradiação laser 660nm 24J (LLLT) e PDT (TBO e irradiação laser). Dez animais em cada grupo experimental e o subgrupo do tratamento foi eutanizado em 7, 15 e 30 dias. Os valores histométricos eram analisados estatisticamente. No grupo ND, os animais tratados por PDT mostrou menor perda óssea (0,33± 0,05mm(2), 0,35± 0,006mm(2) e 0,27± 0,07mm(2) ) em 7, 15 e 30 dias respectivamente em todo período experimental do que o grupo SRP ( 1,11± 0,11mm(2), 0,84± 0,12mm(2) e 0,97± 0,13mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente. O grupo TBO (0,51± 0,12mm(2), 0,70± 0,13mm(2) e 0,64± 0,08mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente e o grupo LLLT (0,59± 0,03mm(2) 0,61± 0,04mm(2) e 0,60± 0,03mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente. No grupo D os animais tratados por PDT mostrou menor perda óssea (0,29 ± 0,03 mm(2), 0,24 ± 0,02 mm(2), e 0,27 ± 0,06 mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente em todo período experimental do que o grupo SRP (2,27 ± 0,47 mm(2), 3,23 ± 0,34 mm(2), e 2,82 ± 0,75 mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente , o grupo TBO (0,51 ± 0,15 mm(2), 0,44 ± 0,07 mm(2), e 0,57 ± 0,13 mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente e o grupo LLLT (0,37 ± 0,05 mm(2), 0,35 ± 0,09 mm(2), e 0,39 ± 0,12 mm(2) em 7, 15 e 30 dias respectivamente. Conclui-se que a PDT foi um tratamento adjunto benéfico para a doença periodontal induzida por placa bacteriana e modificado sistemicamente por diabetes mellitus.

Fernandes (2009), comparou a terapia fotodinâmica (PDT) como um tratamento adjunto da periodontite induzida com raspagem e alisamento radicular (SRP) em ratos inibidos com dexametasona. Os animais foram divididos em 2 grupos ND (n=90) tratamento solução salina, D(n=90) tratamento dexametasona. No grupo ND e D, doença periodontal foi induzida por ligadura no primeiro molar inferior. Depois de 7 dias, a ligadura foi removida e todos os animais receberam SRP e foram divididos de acordo ao seguinte tratamento: SRP, solução salina, azul de toluidina O (TBO), corante phenotiazinium e PDT, TBO e irradiação laser. Dez animais em cada tratamento foram mortos em 7, 15, e 30 dias. Os valores radiográficos e histométricos foram analisados estatisticamente. No grupo ND e D, análise radiográfica mostrou menor perda óssea animais tratados por PDT em todo o período experimental do que SRP e TBO em 15 dias. Depois uma análise histométrica foi

realizada no grupo ND e D, os animais tratados por PDT mostrou menos perda óssea em todo período experimental do que SRP e TBO depois de 15 dias. Conclui-se que a PDT era um tratamento adjunto eficaz da periodontite induzida comparado com SRP em ratos inibidos com dexametasona.

Luan (2009), investigou se o fotossensibilizador azul de toluidina TB mediado exerceu efeitos danosos nos tecidos periodontais em ratos. 24 ratos foram divididos aleatoriamente dentro de 4 grupos, a terapia fotodinâmica experimental (60J/cm<sup>2</sup>), 635nm, 337s. Aqueles no grupo controle foram sujeitos a 140J/cm<sup>2</sup> apenas irradiação laser ou a 2,5mg/mL de azul de toluidina apenas, ou nem TB nem exposição à luz recebida. Todos os ratos foram mortos 72h depois de terem sido sujeitos a PDT, e amostras de tecidos periodontais foram tomadas para examinação histológica. Durante o período de observação de 72h, nenhum rato mostrou alguma aflição, nenhuma mudança necróticas e inflamatórias foram encontradas na gengiva, dentina, polpa dental ou osso alveolar dos ratos em alguns dos grupos neste estudo. Os resultados sugeriram que TB mediado PDT seja uma aproximação antimicrobiana segura para tratamento de periodontopatia sem efeitos prejudiciais aos tecidos normais adjacentes.

### 3.e. 2. Humanos

Sarkar et al. (1993), estudaram os efeitos da terapia fotodinâmica contra bactérias da placa subgengival de pacientes com periodontites crônicas. As amostras das placas foram expostas ao laser de HeNe com potência de 7,3mW por 30 segundos na presença ou ausência de 50 microgramas/mL de azul de toluidina como fotossensibilizador. As unidades formadoras de colônia (UFC) de vários grupos e espécies bacterianas viáveis foram feitas antes e após a irradiação. O número viáveis de bactérias inicialmente presentes após a irradiação foram de  $1,13 \times 10^5$  UFC para bactérias aeróbias,  $4,08 \times 10^5$  para anaeróbias,  $4,92 \times 10^3$  de bactérias anaeróbias pigmentadas de negro,  $4,75 \times 10^2$  para *Porphyromonas gingivalis*,  $6,15 \times 10^3$  para *Fusobacterium nucleatum* e  $1,7 \times 10^4$  para *Streptococcus*. Os resultados demonstraram que a associação do laser com o fotossensibilizador reduziu de forma significativa a viabilidade desses microrganismos com média de redução de 91,1% para aeróbios, 96,6% para anaeróbios e 100% para as bactérias pigmentadas de negro, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e 94% para *Streptococcus*. O azul de toluidina utilizado de forma isolada não foi efetivo na redução da

viabilidade de bactérias. Baseado nesses resultados, os autores concluíram que lasers de baixa potência em conjunto com os devidos corantes, podem ser úteis como coadjuvante ao debridamento mecânico no tratamento da doença periodontal.

Wilson et al. (1995), determinaram, em um estudo in vivo, se as bactérias da placa supragengival poderiam ser eliminadas por um laser em baixa intensidade associado a um fotossensibilizante. As amostras de placa bacteriana obtidas de dez voluntários, foram tratadas com corante azul de toluidina e ftalocianina dissulfonada de alumínio e então expostos a um laser de He-Ne ou AsGaAl respectivamente. Após a irradiação, houve redução substancial das bactérias anaeróbias assim como dos Streptococcus e Actinomyces viáveis. Segundo os autores, a combinação de He-Ne e TBO se mostrou mais eficiente que a combinação de AsGaAl e AlPoS2 na redução de bactérias quando usadas as energias de 1,31J.

Yilmaz et al. (2002), realizou um estudo para avaliarem o efeito terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal em humanos. O grupo de estudo foi composto por 10 pacientes os quais não receberam nenhum tratamento periodontal e uso de antibióticos 6 meses antes do estudo. Os autores utilizaram 4 dentes unirradiculados sendo 1 por quadrante o qual deveria apresentar uma perda óssea de 4 mm na superfície mesial. Os pacientes foram divididos em 4 grupos experimentais sendo: raspagem e alisamento radicular associado ao Laser e azul de metileno 0,05%; apenas a aplicação do Laser; apenas raspagem e alisamento radicular e somente técnicas de higiene oral. O Laser utilizado pelos autores foi o Laser de Arseneto de Gálio com 685 nm de comprimento de onda, na frequência de 5 Hz com potência de 30 mW e densidade de energia de 1,6 J/cm<sup>2</sup>. O Laser foi aplicado imediatamente após a raspagem e alisamento radicular e nos períodos de 2, 4, 9 e 11 dias. Para análise os autores utilizaram dados microbiológicos e dados clínicos como profundidade de sondagem, índice de placa e índice gengival os quais foram coletados 3 semanas após terapia inicial. Na análise microbiológica os autores verificaram diferença estatística nos grupos tratados com a associação da raspagem e alisamento com o Laser e somente a raspagem e alisamento. Quando os autores avaliaram o tipo de tratamento realizado observaram diferença estatística entre os grupos tratados com raspagem e alisamento e Laser com o grupo em que recebeu apenas a aplicação do laser, entre o grupo tratado com raspagem e alisamento e Laser com o grupo o qual realizou somente técnicas de higiene oral e entre o grupo que recebeu somente raspagem e alisamento com o grupo de técnicas de higiene oral. Quando avaliaram os dados clínicos, os autores observaram redução significativa no índice de placa e no índice gengival em todos os grupos. Quando

avaliaram o sangramento a sondagem e profundidade de sondagem houve redução significativa apenas nos grupos os quais foram tratados com raspagem e alisamento radicular associado ao Laser e no qual recebeu somente raspagem e alisamento radicular. No grupo Laser houve uma menor diminuição na perda de inserção, sangramento a sondagem e profundidade de sondagem com exceção no índice gengival e nenhuma diferença foi encontrada entre o grupo do Laser e o grupo que recebeu apenas higiene oral. Quando os autores levaram em consideração todos os parâmetros considerados no exame clínico e microbiológico, somente o debridamento subgengival ou associado ao Laser foi mais efetivo quando comparado com o grupo que recebeu apenas a aplicação do Laser. Os autores concluíram o estudo sugerindo a necessidade de avaliar o efeito da associação de corantes com o Laser como coadjuvantes a terapia periodontal convencional e relatam ainda que esta nova opção terapêutica possa ser vantajosa no tratamento da doença periodontal inflamatória.

Qin et al. (2006), avaliou o efeito do azul do toluidina (TB) - inativação fotodinâmica negociada dos micróbios patogênicos periodontais (PP) dos pacientes com periodontite. A terapia fotodinâmica (PDT) foi realizada usando a irradiação da TB e do laser de 635 nanômetro. O efeito bactericida foi avaliado, e os parâmetros importantes de PDT que incluem a intensidade de luz, a dose da energia, e a concentração da TB eram determinados. Os resultados sugerem que o fotossensibilização letal TB-negociado dos PP seja in vivo possível. Entretanto, para obter o efeito bactericida ideal, umas doses mais elevadas da luz e o fotossensibilizador devem ser exigidos no tratamento in vivo do que suas contrapartes planktonic. O melhor efeito terapêutico foi observado no tratamento por 1 mg/ml TB combinado com os 12 J/cm<sup>2</sup> em uma irradiação clara de 159 mW/cm<sup>2</sup>. Além disso, por causa das diferenças interindividual consideráveis de populações bacterianas, PDT TB-negociado não pôde ser igualmente eficaz entre pacientes com periodontite, e mais os estudos na melhoria desta modalidade terapêutica são necessários.

Oliveira et al. (2007), estudaram o efeito da terapia fotodinâmica em pacientes com periodontites agressivas. Em cada paciente metade da cavidade bucal foi tratada pela raspagem com instrumentos manuais e a outra com a terapia fotodinâmica, utilizando um laser com comprimento de onda de 690 nm associado ao fotossensibilizador fenotiazina. Os padrões analisados foram: o índice de placa, índice gengival, sangramento a sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival e o nível de inserção clínica relativa. Essas medidas foram feitas no início e três meses após o início dos tratamentos. Os resultados mostraram que os padrões analisados diminuíram com a realização dos tratamentos, com

uma significativa redução no índice gengival e no sangramento à sondagem. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica e a raspagem convencional mostraram resultados clínicos similares no tratamento não cirúrgico da periodontite agressiva.

Andersen et al. (2007), com objetivo de avaliarem o efeito da fotodesinfecção como método coadjuvante ao tratamento da doença periodontal convencional, utilizaram 33 pacientes que apresentavam quadro de periodontite crônica. Os pacientes foram divididos em 3 grupos: G1-Pacientes tratados apenas com a fotodesinfecção; G2- Pacientes tratados apenas com raspagem e alisamento radicular; G3- Pacientes tratados com raspagem e alisamento radicular e posterior tratamento com a fotodesinfecção. Para análise clínica dos resultados os autores consideraram profundidade de sondagem, sangramento a sondagem e nível de inserção clínica. As avaliações foram realizadas previamente ao tratamento proposto e nos períodos de 3, 6 e 12 semanas de pós operatório. Como agente fotossensibilizador foi utilizado o azul de metileno na concentração de 0,05% na forma de gel. Como fonte de luz, foi utilizado o laser diodo com 670 nm e potência de 150 mW. O tempo de exposição por sítio foi de 60 segundos e densidade de energia com variação entre 10-20 J/cm<sup>2</sup>. Os autores puderam observar que a fotodesinfecção associada à raspagem e alisamento radicular foi a terapia que apresentou a melhor redução na profundidade da bolsa e ganho de inserção após seis e doze semanas. Estes autores concluíram o estudo relatando que a raspagem e alisamento radicular combinado com a fotodesinfecção levam a uma significativa melhora nos parâmetros clínicos no tratamento da doença periodontal crônica.

Chondros (2007), avaliou os efeitos clínicos e microbiológicos no uso adjunto da PDT no tratamento periodontal não cirúrgico em 24 pacientes, no qual eram determinados aleatoriamente para o grupo controle (n=12) e grupo teste (n1=12), compreendendo de 12 pacientes em cada grupo. Os pacientes designados para o tratamento controle (grupo controle) recebiam debridamento mecânico com Sonic Scaler (Sonicflex ®) Kavo Dental GmbH, Biberach Alemanha, com 6000 Hz e a instrumentação era terminada quando o operador julgava o debridamento estar executado adequadamente (raspagem subgengival e alisamento radicular), para o tratamento teste (grupo teste) os pacientes recebiam debridamento mecânico da mesma maneira do grupo controle (raspagem subgengival e alisamento radicular) e seguido por um episódio único de PDT adicionalmente um corante/sistema laser era aplicado, (sistema consistia de um hand. Held. Battery operated diodo laser (HELBO® minilaser 2075F.dent HELBO photodynamic Systems GmbH&CoKG, Greskurchen Áustria), 670nm, 75mW/cm<sup>2</sup> e o corante usado foi uma solução comercialmente baseado na phenothiazine chloride (HELBO-BLUE Photosensitizer®

HELBO Photodynamic Systems. O fotossensibilizador foi aplicado cuidadosamente com uma agulha romba ao redor do fundo da bolsa periodontal, depois o laser diodo era usado com um 8,5cm, curvando com ângulo de 60°, trabalhando por 60 segundos por dente. Na avaliação clínica, os dados clínicos foram coletados antes do tratamento e seguia exame de 3 e 6 meses depois da terapia, para medidas de sondagem um manual de sonda periodontal foi usado (UNC-15, Hu-Friedy Co. Chicago, IL, USA). Realizou-se a contagem de placa da boca toda (FMPS), contagem de sangramento da boca toda (FMBS), sangramento de sondagem (BOP) nas áreas experimentais, profundidade de sondagem de bolsa (PPD), recessão gengival (REC), nível de inserção clínica (CAL). Na avaliação microbiológica, amostras de placa subgengival foi coletado, de áreas profundas em cada quadrante, usando um kit comercialmente disponível (micro-I Dent® Hain Lifescience GmbH, Nihren, Alemanha), as áreas das amostras foi testada em 3 e 6 meses, a análise das amostras era executada para identificar os microrganismos: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Prevotella intermedia* (P.i.), *Tannerella forsythensis* (T.f.), *Treponema denticola* (T.d.), *Peptostreptococcus micros* (P.m.), *Fusobacterium nucleatum* (F.n.), *Campylobacter rectus* (C.r.), *Eubacterium nodatum* (E.n.), *Eikenella corrodens* (E.c.) e *Capnocytophaga species* (C.e.). Os resultados na avaliação clínica mostrou que todos os pacientes apresentavam cicatrização regular, ausência de dor e nenhum outro desconforto foi relatado por qualquer um dos pacientes de ambos os grupos. Em 3 e 6 meses depois do tratamento, não tinham diferenças estatisticamente significantes entre os grupos nos termos de PPD, CAL e FMPS. Em 3 e 6 meses, uma melhora significativa alta estatisticamente em BOP foi encontrado no grupo teste. Para a boca toda contagem de sangramento (FMBS) tinha uma diferença significativa entre os grupos em 6 meses de exame em favor do grupo teste. Os resultados na avaliação microbiológica mostrou que para o grupo teste teve uma significativa redução estatística em 3 meses por F.n. e E.n. e em 6 meses de avaliação por E.c. e C.s. em comparação com grupo controle. Os autores concluíram que o estudo mostrou aplicação adicional de um único episódio de PDT para raspagem e alisamento radicular falhou no resultado na melhoria adicional em termos da PPD redução e CAL aumento, mas resultou em alta redução significativa de contagem de sangramento que seguido da raspagem e alisamento radicular sozinho.

Braum (2008), avaliou o efeito antimicrobiano adjunto da terapia fotodinâmica (PDT) na periodontite crônica. Vinte pacientes com periodontite crônica não tratados era incluído. Todos dentes receberam o tratamento periodontal que compreende de raspagem e alisamento radicular. Usando um split-mouth design, 2 quadrantes (grupo teste) foram



tratados adicionalmente com a PDT. Taxa de fluxo do fluido sulcular (SFFR) e sangramento na sondagem (BOP) foram avaliados na linha de base, 1 semana e 3 meses após o tratamento. Perda de nível de inserção (RAL), profundidade de sondagem (PDs) e recessão gengival (REC) foram avaliados em linha de base e 3 meses após o tratamento. Valores medianos na linha de base por PD, REC e RAL não eram diferentes no grupo teste e grupo controle. Valores para RAL, PD, SFFR e BOP diminuídos significativamente 3 meses após o tratamento no grupo controle (delta mediano RAL = -0,35mm, escala inter-quartil = 0,21mm) com um impacto mais elevado nas áreas tratadas com a PDT adjunta (delta mediano RAL = -0,67mm, escala inter-quartil = 0,36mm) REC aumentado 3 meses após o tratamento com ou sem a PDT adjunto, sem diferença entre os grupos. Conclui-se que em pacientes com periodontite crônica, resultados clínicos de debridamento subgengival convencional pode ser melhorado pela PDT adjunta.

Ge et al. (2008), avaliou os efeitos de uma terapia fotodinâmica baseada no laser do diodo no tratamento do periodontite crônica, 58 pacientes com periodontite crônica foram divididos em 3 grupos. Grupo A foi tratado com raspagem e alisamento radicular (SRP) adicionada com terapia desinfecção fotoativada por um tempo (Periowave(TM): um laser diodo com comprimento de onda de 670nm e 0.01% solução de azul de metileno). No grupo B, os pacientes eram tratados com SRP seguido por desinfecção fotoativada e uma segunda desinfecção fotoativada tratamento 6 semanas depois. Grupo C era tratado com SRP apenas. O tempo de irradiação era de 60 segundos e potência de 140mW. Fluido crevicular gengival (GCF) as amostras destes três grupos de pacientes foram obtidas antes do tratamento periodontal, das 6 semanas e das 12 semanas após o tratamento. GCF foi coletado usando uma tira de papel, e o ensaio imunossorbente enzima-lig (ELISA) foi executado para determinar os níveis do citocina (IL-1beta e MMP-8). Os dados foram analisados com pacote de software do SAS 6.12. ELISA mostrou que os níveis IL-1beta e MMP-8 de todos os grupos estiveram diminuídos significativamente em a semana 6 depois que tratamento compararam aos níveis do pré-tratamento. Nenhuma diferença significativa do inter-grupo foi anotada. Na semana 12 após o tratamento, as diminuições em níveis de IL-1beta do grupo A e B e a diminuição no nível MMP-8 do grupo B eram significativamente mais elevados do que o grupo C ( $P < 0.05$ ). Baseado nestes resultados, parece que SRP e SRP com PDT são tudo eficazes para o periodontitis crônico, mas o efeito de SRP com PDT pode durar mais por muito tempo. PDT parece conseqüentemente ser uma adjução útil a SRP para a terapia crônica do periodontitis. Suportado pelo National "Tenth Five-Year" Key

Science and Technology Research Project (Grant No.2004BA72026) and International Cooperation Project (Grant No.051012).

Christodoulides et al. (2008), avaliou os efeitos clínicos e microbiológicos do uso adjunto de PDT ao tratamento periodontal não cirúrgico. Vinte e quatro pacientes com periodontite crônica foram tratados aleatoriamente com raspagem e alisamento radicular seguido por um único episódio de PDT (teste) ou a raspagem e alisamento radicular (controle). A contagem da placa da boca toda (FMPS), a contagem do sangramento da boca toda (FMBS), a profundidade de sondagem (PD), recessão gengival, e a inserção clínica (CAL) foram medidos na linha de base e nos 3 e 6 meses após a terapia. As variáveis preliminares do resultado eram mudanças no PD e no CAL. Avaliação microbiológica de actinomyces comitans de *Aggregatibacter* (previamente actinomyces comitans do *Actinobacillus*), de *gingivalis* de *Porphyromonas*, de *intermedia* de *Prevotella*, de *forsythia* de *Tannerella* (previamente *forsythensis* do T.), de *denticola* do ON *treponema*, de *mícrons* de *Parvimonas* (previamente *micros* de *Peptostreptococcus* ou *micros* de *Micromonas*), de *nucleatum* da fusobactéria, de *músculo reto* do *Campylobacter*, de *nodatum* de *Eubacterium*, de *corrodens* de *Eikenella*, e de *Capnocytophaga* spp. foi executado na linha de base e nos 3 e 6 meses que seguem a terapia usando um teste disponível no comércio da reação em cadeia do polimerase. Em 3 e 6 meses após o tratamento, não havia nenhuma diferença estatística significativa entre os grupos no que diz respeito ao CAL, PD, o FMPS, ou mudanças microbiológicas. Em 3 e 6 meses, uma melhoria estatística significativamente maior em FMBS foi encontrada no grupo de teste. A aplicação adicional de um único episódio de PDT para raspagem e alisamento radicular falhou para o resultado em um adicional melhoria nos termos de PD redução e CAL ganho, mas isto resultou em uma significativa aumento na redução em contagem de sangramento comparado à raspagem e alisamento radicular sozinho.

Oliveira (2009), investigou níveis do citocina no fluido gengival crevicular (GCF) de pacientes com periodontite agressiva depois do tratamento com terapia fotodinâmica (PDT) ou raspagem e alisamento radicular (SRP) em uma boca dividida projeto em -7, 0, +1, +7, +30, e +90 dias. Dez pacientes eram tratados aleatoriamente com PDT usando uma fonte laser associada com um fotossensibilizador ou SRP com instrumentos manuais. Amostras de GCF foi coletado e as concentrações de fator-alfa necrose tumoral (TNF-alfa) e ativador do receptor do ligante nuclear do fator-Kappa B (RANKL) foi determinada por ensaios enzima-ling imunossorção. Os dados foram analisados usando equações de cálculo generalizada para testar a associação entre tratamentos, avaliou parâmetros, e tempo

experimental( $\alpha=0,05$ ), resultados: tratamento periodontal não cirúrgico com PDT ou SRP conduziu às reduções estatísticas significativas no nível do TNF-alfa 30 dias que seguem o tratamento. Havia uns níveis similares de TNF-alfa e de RANKL nos pontos diferentes do tempo em ambos os grupos. Sem diferenças estatísticas significativas. Conclui-se que SRP e PDT tiveram efeitos similares no TNF-alfa crevicular e nos níveis de RANKL em pacientes com periodontite agressiva.

Pinheiro et al. (2009), apontou avaliar a capacidade da terapia fotodinâmica para reduzir os números de bactérias viáveis na bolsa periodontal. Amostras microbiológicas foram coletadas antes e depois da raspagem e depois terapia fotodinâmica de 10 voluntários entre 40-60 anos de idade com doença periodontal apresentando bolsa de 4-6mm. Terapia fotodinâmica foi executada através da inserção do fotossensibilizador azul de toluidina e Endo PTC dentro da bolsa por 3 minutos, seguido por fotossensibilização com diodo de baixa intensidade de  $4J/cm^2$ . Os resultados foram submetidos a uma análise descritiva e um T-teste. Uma redução de 81,24% nos números de bactérias depois da raspagem foi observado, assim como 95,90% depois da terapia fotodinâmica ( $P<0,01$ ). Terapia fotodinâmica é indicada como tratamento adjuvante para reduzir os números de bactérias viáveis na doença periodontal.

#### **4. DISCUSSÃO**

Comprovada pelos diversos estudos na literatura (ALEO et al., 1974; LISTGARTEN, 1975; REGISTER; BURDICK, 1975; LINDHE; ERICSSON, 1978; LASHO et al., 1983) a terapêutica periodontal através da raspagem e alisamento radicular é de extrema importância, pois remove depósitos bacterianos, cálculos e camadas superficiais das raízes, como cemento e dentina, que podem ser considerados como tecidos necrosados e reservatórios de toxinas bacterianas (ALEO et al., 1974; BIAGINI et al., 1992). Este cemento e/ou dentina remanescente após raspagem e alisamento radicular podem ainda estar contaminados tanto pela presença de microorganismos nas suas superfícies bem como na camada de smear layer formada durante o procedimento de raspagem e alisamento radicular (POLSON et al., 1984), interferindo assim no processo de reparação periodontal.

Como o uso isolado da terapia mecânica não é capaz de manter os baixo níveis de microrganismos por períodos mais prolongados principalmente no interior dos tecidos

moles e duros assim como em áreas inacessíveis aos instrumentais periodontais como regiões de furca ,depressões radiculares , concavidade e a anatomia dentaria, localização dos dentes na cavidade bucal e profundidade das bolsas periodontais, limitam desta forma a eficácia da raspagem e alisamento radicular levando alguns autores a indicarem uma terapia química associada ao tratamento de raspagem e alisamento radicular.Porem o uso de antimicrobianos tem sido contudo o maior responsável na seleção de bactérias resistentes responsáveis pela propagação da doença periodontal e trazendo efeitos adversos indesejáveis e desenvolvimento de resistência a droga bacteriana (ALMEIDA, 2004).

Com o desenvolvimento do Laser por Theodore Maiman em 1960, inúmeros trabalhos têm demonstrado os efeitos biomoduladores benéficos desta nova modalidade terapêutica, sobre os eventos biológicos envolvidos no processo de reparação tecidual. Tais efeitos biomoduladores são decorrentes dos efeitos não térmicos promovido pelos Lasers em baixa intensidade, com uma densidade de potência de alguns mW/cm<sup>2</sup>, que exclui os efeitos térmicos ao tecido tratado não ultrapassando 37,5 graus celsius.Os fotoceptores presentes nas células e no tecido são responsáveis por absorver luz em certos comprimentos de onda, o que pode resultar em reações bioquímicas no tecido promovendo, desta forma, a biomodulação da resposta celular. Karu (1989) explica que tal efeito é decorrente das alterações fotoquímicas nas mitocôndrias, que alteram o metabolismo, conduzindo à transdução, processo o qual consiste na transferência de energia de um sistema para outro, ou seja do sinal a outras partes da célula incluindo membranas, que finalmente conduzem à fotorresposta ou biomodulação.

Recentemente a terapia envolvendo o uso do Laser de baixa intensidade tem despertado atenção de muitos pesquisadores principalmente o seu uso na terapia fotodinâmica. Esta, definida como a irradiação de células/bactérias marcadas por uma espécie de oxigênio reativo produzido por meio de uma droga fotossensibilizadora e luz com comprimento de onda apropriado (DOUGHERTY, 2002), tem apresentado resultados animadores com resultados efetivos em promover a morte Bacteriana e no tratamento da doença periodontal.

Assim o uso da PDT desta forma reduz-se as necessidades de retalhos ,deve reduzir o tempo de tratamento , e desconforto do paciente .diminuindo os riscos de bacteremia como ocorre rotineiramente depois do tratamento periodontal, sendo benéfica durante a manutenção da terapia periodontal porque pode atuar no biofilme e eliminar a necessidade para a remoção da substancia adicional da raiz pela retirada mecânica.Assim os pacientes devem experimentar menos hipersensibilidade dentinaria (ALMEIDA, 2007).

Por ser uma terapia realizada topicamente (pode ser realizada topicamente no interior da bolsa,consequentemente evitando overdose) possibilita a absorção pela microbiota local sem os efeitos indesejáveis de um agente administrado sistemicamente, que solicitaria altas concentrações, necessidade de metabolização , atingindo a área interessada de forma inespecífica através da corrente sanguínea o que não ocorre com terapia fotodinâmica a qual apresenta efeito local e específico(à célula alvo), e não seleção de cepas resistentes alem de ter o efeito biomodulador do laser em baixa intensidade associado favorecendo desta forma a reparação tecidual pois o laser favorece a neo-angiogenese , migração e proliferação celular e maturação do colágeno mais diferenciada, e redução de inflamação nos tecidos periodontais porque a terapia laser deve aumentar a corrente respiratória mitocondrial e síntese de ATP favorecendo o processo de reparo induzindo proliferação de células promovendo produção de ácidos nucléicos e aumentando a divisão de células e síntese de colágeno e tendo efeito bactericida alem de ser de simples execução, aplicação, inespecífica (atinge um grande numero de microrganismos),custo reduzido,não apresenta efeito colateral, Inicia sua atividade somente quando exposta a luz (ALMEIDA, 2007).

A atividade de fatores de virulência de bactérias gram-negativas são também reduzidos com a PDT, Inclue redução de necessidades por procedimentos e tempo mais curto de tratamento (ALMEIDA, 2008).

A ação bactericida desta nova opção terapêutica tem sido evidenciada em diferentes microrganismos como as *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Actinobacilos actinomycetemcomitans*, *Bacteróides forsythus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Hemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Cândida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium nucleatum*, *S. sanguis* (HAAS et al., 1997; USACHEVA et al., 2001; TEICHART et al., 2002; YILMAZ et al., 2002; NUSSBAUM et al., 2002; MATEVSKI et al., 2003; KREISLER et al., 2003; KÖMERIK et al., 2003; CHAN; LAI, 2003; SHIBLI et al., 2003).

Esta terapia pode sofrer influências de alguns fatores como, a concentração da droga, tempo de permanência da droga no interior do tecido, pH do meio, presença de exsudato, matéria orgânica, sangue, fluxo do fluido gengival, modo de aplicação da droga, comprimento de onda do Laser, energia utilizada e tempo de exposição da droga ao Laser (WILSON, 1994). Esta pode também sofrer influência de exotoxinas produzidas por bactérias gram negativas envolvidas com a destruição periodontal, sendo que a utilização de corantes catiônicos (p.ex azul de metileno e azul de toluidina O) associado ao Laser, os efeitos negativos das exotoxinas sobre a terapia fotodinâmica tornam-se nulos (GAD et al.

2004). O sucesso da PDT depende de vários parâmetros, tais como um fotossensibilizador , sua concentração, e energia de fonte de luz.

O fotossensibilizador não pode ser tóxico aos tecidos, deve absorver uma raio de luz laser emitida compatível com comprimento de onda e deve produzir alta eficiente excitação (uma alta probabilidade de formação de estado tripleto por fóton absorvido) e uma longa vida estado tripleto (ALMEIDA, 2008).

## 5. CONCLUSÃO

Diante desta revisão de literatura observamos que o uso da terapia fotodinâmica (PDT) no tratamento da doença periodontal pode:

- 1- Promover redução do número de micro-organismos, sendo efetivo na eliminação de bactérias principalmente as periodontopatógenas;
- 2- Reduzir a perda óssea alveolar significativamente. Mostra-se efetiva para o controle de perda óssea em áreas de furca em periodontite;
- 3- Promover a redução dos sinais clínicos da doença periodontal como edema e sangramento durante sondagem e redução da reação inflamatória na gengiva;
- 4- Possibilitar Ganho no nível de inserção clínica (CAL) e a redução da profundidade de sondagem;
- 5- Promover a redução da inflamação dos tecidos que circundam os dentes e permitir a reparação mais rápida dos tecidos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AINAMO, J. et al. Clinical responses to subgingival application of a metronidazole 25% gel compared to the effect of subgingival scaling in adult periodontitis. *J Clin Periodontol.*, v. 19, p. 723-729, 1992.

2. ALEO, J. J., et al. The presence and biologic activity of cementum-bound endotoxin. **J. Periodontol.**, v. 45, n. 9, p. 672-675, 1974.
3. ALMEIDA, J. M. **Ação da Terapia Fotodinâmica no tratamento da Doença Periodontal induzida: estudo histológico em ratos.** 2004. 197 f. Tese (Mestrado em Periodontia)- Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2004
4. ALMEIDA, J. M. et al. Terapia fotodinâmica: Uma opção na terapia periodontal. Photodynamic therapy: na option in periodontal therapy. *Arquivos em Odontologia*, Belo Horizonte, v.42, n.3, p.161-256, jul./set. 2006.
5. ALMEIDA, J. M. **Avaliação Histológica e Histométrica da Terapia Fotodinâmica no Tratamento da Doença Periodontal Experimental Induzida em Ratos Diabéticos e não Diabéticos.** 2007. 175 f. Tese (Doutorado em Periodontia)- Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.
6. ALMEIDA, J. M. et al. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J Periodontol.**, v. 78, n. 3, p. 566-75, 2007 Mar.
7. ALMEIDA, J. M. et al. In Vivo Effect of Photodynamic Therapy on Periodontal Bone Loss in Dental furcations. **J Periodontol.**, v. 79, n. 6, p. 1081-8, 2008 Jun.
8. ALMEIDA, J. M. et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. **J Periodontol.**, v. 79, n. 11, p. 2156-65, 2008 Nov.
9. ANDERSEN, R. et al. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. **J Clin Dent.**, v. 18, p. 34-38, 2007.
10. AUKHIL, I. Biology of wound healing. **Periodontol 2000.**, v. 22, p. 44-50, 2000.

11. AVERBAKH, M. M. et al. Effect of helium-neon laser on the healing of aseptic experimental wounds. **Eksp. Khir. Anaesteziol.**, v. 3, p. 56-57, 1976.
12. AWARTANI, F. A.; ZULQARNAIN, B. J. Comparison of the clinical effects of subgingival application of metronidazole 25% gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. **Quintessence Int.**, v. 29, n. 1, p. 41-48, 1998.
13. BABAY, N. Comparative SEM study on the effect of root conditioning with EDTA or tetracycline HCL on periodontally involvrd root surfaces. **Indian J. Dent. Res.**, v. 11, n. 2, p. 53-57, 2000.
14. BABAY, N. Attachment of human gingival fibroblasts to periodontally involved root surface following scaling and/or etching procedures: a scanning electron microscopy study. **Braz. Dent. J.**, v. 12, n.1, p. 17-21, 2001.
15. BASFORD, J. R. Comparison of cold-quartz ultraviolet, low-energy laser, and occlusion in wound healing in a swine model. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, v. 67, n. 3, p. 151-154, 1986.
16. BENSTEAD, K:MOORE, J. V. Quantitative histological changes in murine tail skin following photodynamic therapy. **Br J cancer.**, v. 59, n. 4, p. 503-9, 1989.
17. BIAGINI, G. et al. In vitro growth of periodontal fibroblasts on treated cementum. **Quintessence Int.**, v. 23, n. 5, p. 335-340, 1992.
18. BISHT, D. et al. Effect on low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Indian. J. Med. Res.**, v. 100, p. 43-46, 1994.
19. BLOMLÖF, J. P. S.; LINDSKOG, S. F. Periodontal tissue-vitality after different etching modalites. **J. Clin. Periodont.**, v. 22, p. 464-468, 1995.
20. BLOMLÖF, J. P. S. Root cementum apperance in healthy monkeys and periodontitisprone patients after different etching modalites. **J. Clin. Periodont.**, v. 23, n. 1, p. 12-18, 1996.



21. BLOMLÖF, J. P. S. et al. A clinical study of root surface conditioning with an EDTA gel. II. Surgical periodontal treatment. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v. 20, n. 6, p. 567-573, 2000.
22. BRAUN, A. et al. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. **J Clin Periodontol.**, v. 35, n. 10, p. 877-84, Epub 2008 Aug 17, 2008 Oct.
23. CALIN, M. A.; PARASCA, S. V. Light sources for photodynamic inactivation of bacteria. **Lasers Med Sci.**, 2008 Jul 12. [Epub ahead of print]
24. CARGNELUTTI, T. **Estudo comparativo da influencia da terapia fotodinâmica antimicrobiana e remoção mecânica de biofilme no processo inflamatório periodontal induzido em hamsters.** 2007. 45 f. Tese (mestrado profissionalizante Laser em Periodontia)- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares , São Paulo, 2007
25. CATON, J. G.; CIANCIO, S. G.; BLIEDEN, T. M. Subantimicrobial dose doxycycline as na adjunct to scaling and root planning: post-treatment effects. **J Clin Periodontol.**, v. 28, p. 782-789, 2001.
26. CHAN, Y.; LAI, C. H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. **Lasers Med. Sci.**, v. 18, n. 1, p. 51-55, 2003.
27. CHONDROS, P. et al. Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. **Lasers Med Sci.**, 2008 May 9. [Epub ahead of print]
28. CHRISTODOULIDES, N. et al. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. **J Periodontol.**, v. 79, n. 9, p. 1638-44, 2008 Sep.

29. CONLAN, M. J.; RAPLEY, J. W.; COBB, C. M. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation: a review. **J. Clin. Periodontol.**, Munksgaard, v. 23, n. 5, p. 492-496, May 1996.
30. COLUSSI, V. C.; NICOLA, E. M. D.; NICOLA, J. H. Fototerapia, fotoquimioterapia e alguns fotossensibilizadores. **Rev Assoc Med Brás.**, v. 42, p. 229-36, 1996.
31. DEAS, D. E.; MACKEY, S. A.; MCDONNELL, H. T. Systemic disease and periodontitis: manifestations of neutrophil dysfunction. **Periodontol.**, v. 32, p. 82-104, 2000 2003.
32. DOBSON, J.; WILSON, M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. **Arch Oral Biol.**, v. 37, p. 883-7, 1992.
33. DOUGHERTY, T. J. An update on photodynamic therapy applications. **J Clin Laser Med Surg.**, v. 20, p. 3-7, 2002.
34. DOVIGO, L. N. **Efetividade da Terapia Fotodinâmica na inativação da *Cândida spp.*** 2007. 149 f. Tese (Mestrado em Reabilitação Oral ,Prótese)- Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.
35. DRULIS-KAWA, Z. et al. The susceptibility of anaerobic bacteria isolated from periodontal diseases to photodynamic inactivation with Fotolon (chlorin e6). **Pol J Microbiol.**, v. 54, n. 4, p. 305-10, 2005.
36. EDUARDO, C. P.; CECCHINI, R. C. M.; CECCHINI, S. C. M. O papel coadjuvante do Nd:YAG laser na endodontia. Ver. ABO Nac., v. 1, n. 2, p. 102-104, set./out., 1993.

37. ENWEMEKA, C. S. Laser bioestimulation of healing wounds: Specific effects and mechanisms of action. **J. Orthopedic Sport Phys. Therapy.**, v. 9, n.10, p. 333-338, 1988.
38. EROGLU, L.; CAGLAYAN, B. Anxiolytic and antidepressant properties of methylene blue in animal models. **Pharmacol. Res.**, v. 36, n. 5, p. 381-385, 1997.
39. ESPINOSA, C. R. **Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com laser ou com solução fotossensibilizadora associada ao laser de baixa estimulação:** estudo histológico em ratos. 1999. 98f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas) – Faculdade de Ciências Odontológicas, Universidade de Marília, Marília, 1999.
40. FARDAL, O.; LOWENBERG, B. F. A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts to human dental root surfaces *in vitro*. **J. Periodontol.**, v. 61, n. 8, p. 529-535, 1990.
41. FERES, M. et al. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections. II. Effect on antibiotic resistance of subgingival species. **J. Clin. Periodontol.**, v. 26, p. 784-792, 1999.
42. FERNADES, L. A. **Avaliação histológica e histométrica dos efeitos da terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal induzida em ratos tratados ou não tratados com corticóide.** 2007. 161 f. Tese (Mestrado em periodontia)- Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.
43. FERNANDES, L. A. et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in immunosuppressed rats. **J Clin Periodontol.**, v. 36, n. 3, p. 219-28, 2009 Mar.
44. FERREIRA, J. P. R. **Estudo “in vitro” da ação do laser em baixa intensidade, associado ou não a drogas fotossensibilizadoras, sobre a viabilidade de**

- microrganismos bucais.** 2001. 58 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas) – Faculdade de Ciências Odontológicas, Universidade de Marília, Marília, 2001.
45. GAD, F. et al. Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. **Antimicrob Agents Chemother.**, v. 48, p. 2173-2178, 2004.
46. GARCIA, V. G. **Comportamento de feridas cutâneas submetidas à ação do raio laser:** estudo clínico, biométrico e histológico em ratos. 1992. 107f. Tese (Livre-Docência)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 1992.
47. GE, L. H.; SHU, R.; SHEN, M. H. Effect of photodynamic therapy on IL-1beta and MMP-8 in gingival crevicular fluid of chronic periodontitis. **Shanghai Kou Qiang Yi Xue.**, v. 17, n. 1, p. 10-4, 2008 Feb.
48. GOLDMAN, L. Impact of the laser on dental caries. **Nature.**, v. 25, p. 417, 1964.
49. GONÇALVES, P. F. **Influência da ciclosporina-A e nifedipina sobre a perda óssea alveolar na periodontite induzida em ratos.** 2002. 89f. Tese (Mestrado em clínica odontológica na area de Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2002.
50. GOODSON, J. M. Periodontal disease treatment by local drug delivery. **J.Periodontal.**, v. 56, n. 5, p. 265-272, 1985.
51. HAAS, R. et al. Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser an in vitro study. **Clin Oral Implants Res.**, v. 8, p. 249-254, 1997.
52. HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol 2000.**, v.5, p. 78-111, 1994.

53. HANES, P. J.; POLSON, A. M.; FREDERICK, G. T. Initial wound healing attachments to desmineralized dentin. **J. Periodontol.**, v. 59, n. 3, p. 176-183, 1988.
54. HAYEK, R. R. et al. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. *J Periodontol* 2005;76:1275-1281.
55. IGNÁCIO, M. S. **Terapia fotodinâmica em controle microbiológico-Fungos,Bactérias,Vírus- em lesões de pele, mucosa e tecido conjuntivo.** 2007. 34 f. (Trabalho de conclusão de curso de Aperfeiçoamento em Terapias Fotônicas à Lasers e Leds nas Áreas da Saúde)- Univesidade de São Paulo, Instituto de Física São Carlos Departamento de Física e Ciências dos matérias Laboratório de Biofotonica, São Paulo, 2007.
56. ISIK, A. G. et al. A comparative scanning electron microscopic study on the characteristics of desmineralized dentin root surface using different tetracycline HCl concentrations and application times. **J. Periodontol.**, v. 71, n. 2, p. 219-225, 2000.
57. KAMMA, J. J.; NAKOU, M.; MANTI, F. A. Predominant microflora of severe, moderate and minimal periodontal lesions in young adults with rapidly progressive periodontites. **J. Periodontal Res.**, v. 30, p. 66-72, 1995.
58. KAMEYA, T. et al. Effect of different wavelengths of low level laser therapy on wound healing in mice. **Laser Therapy.**, v. 7, p. 33-36, 1995.
59. KANA, J. S. et al. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Arch. Surg.**, Chicago, v. 116, n. 3, p. 293-296, Mar.1981.
60. KAPANY, N. S. et al. Retinal photocoagulation by laser. **Nature.**, v. 199, p. 146, 1963.

61. KARU, T. Photobiology of low-power laser effects. **Health Phys.**, v. 56, p. 691-704, 1989.
62. KINANE, D. F.; JOHNSTON, F. A.; EVANS, C. W. Periodontitis modified by systemic factors. **Ann. Periodontol.**, v. 4, n. 1, p. 54-64, 1999.
63. KÖMERIK, N. et al. Fluorescence biodistribution and photosensitizing activity of toluidina blue O on rat buccal mucosa. **Laser Med Sci.**, v. 17, p. 86-92, 2002.
64. KÖMERIK, N. et al. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. **Antimicrob Agents Chemother.**, v. 47, n. 3, p. 932-40, 2003 Mar.
65. KRECHINA, E. K.; EFREMOVA, N. V.; MASLOVA, V. V. Pathogenetic substantiation of periodontal disease treatment by photodynamic therapy. **Stomatologija (Mosk.)**, v. 85, n. 4, p. 20-5, 2006.
66. KREISLER, M. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: An in vitro study. **J Clin Periodontol.**, v. 30, p. 353-358, 2003.
67. LAM, T.; ABERGEL, P.; MEEKER, C. et al. Low-energy lasers selectively enhance collagen synthesis. **Lasers Life Sciences.**, v. 1, p. 61-77, 1986.
68. LASHO, D. J.; O'LEARY, T. J.; KAFRAWY, A. H. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. **J. Periodontol.**, v. 54, n. 4, p. 210-220, 1983.
69. LEE, P.; KIM, K.; KIM, K. Effects of low incident energy levels of infrared laser irradiation on healing of infected open skin wounds in rats. **Laser Therapy.**, v. 5, p. 59-64, 1993.

70. LIMA, M. A. **Reparação de feridas cutâneas retardadas submetidas ao tratamento com Laser em baixa intensidade, associado ou não à droga Fotossensibilizadora**- Estudo histológico em ratos. 2004. 78 f. Tese (Mestrado em Cirurgia Buco Maxilo Facial)- Faculdade de Ciências Odontológicas de Marília, Universidade de Marília, UNIMAR, Marília, 2004.
71. LINDHE, J.; ERICSSON, I. Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in dog. **J. Periodontol.**, v. 49, n. 7, p. 343-350, 1978.
72. LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. (Ed.). Patogênese da Periodontite. In: DENIS, F.; KINANE E JAN LINDHE. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral.**, 3aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.127-152.
73. LISTGARTEN, M. A. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. **J. Periodontol.**, v. 46, p. 677-680, 1975.
74. LOESCHE, W. J. et al. Treatment of periodontal infections due to anaerobic bacteria with short-term treatment with metronidazole. **J. Clin. Periodontol.**, v. 8, n. 1, p. 29-44, 1981.
75. LOESCHE, W. J. et al. Metronidazole in periodontitis: reduced need for surgery. **J. Clin. Periodontol.**, v. 19, p. 103-112, 1992.
76. LOWE, A. S. et al. Effect of low intensity monochromatic light therapy (890 nm) on a radiation-impaired, wound-healing model in murine skin. **Laser Surg. Med.**, v. 23, n. 5, p. 291-298, 1998.
77. LUAN, X. L. Histological evaluation of the safety of toluidine blue-mediated photosensitization to periodontal tissues in mice. 2009
78. MACHADO, A. E. H. Terapia Fotodinâmica: Princípios, Potencial de Aplicação e Perspectivas. **Química Nova.**, v. 23, n. 2, p. 237-243, 2000.

79. MAISCH, T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? **Lasers Med Sci.**, v. 22, n. 2, p. 83-91, Epub 2006 Nov 21. Review. 2007 Jun;
80. MALDONADO, E. P. Mecanismos de interação laser-tecido. Apostila do Curso de Mestrado em Lasers em Odontologia. Disciplina LO-03 Interação da Luz Laser com os tecidos biológicos: Aplicações. IPEN. 2000.
81. MALIK, Z. et al. The bactericidal activity of a deuteroporphyrin-hemi mixture on gram-positive bacteria. A microbiological and spectroscopic study. **J. Photochem. Photobiol b.**, v. 6, n. 4, p. 419-430, 1990.
82. MATEVSKI, D. et al. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. **J Periodontal Res.**, v. 38, p. 428-435, 2003.
83. MATTSON, J. S.; GALLAGHER, S. J.; JABRO, M. H. The use of 2 biosorbable barrier membranes in the treatment of interproximal intrabony periodontal defects. **J. Periodontol.**, v. 70, n. 5, p. 510-517, 1999.
84. MEALEY, B. L.; RETHMAN, M. P. Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. **Dent Today.**, v. 4, p. 107-113, 2003.
85. MEISEL, P.; KOCHER, T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. **J Photochem Photobiol B.**, v. 79, n. 2, p. 159-70, Review. ., 2005 May 13.
86. MELCHER, A. H. On the repair potential of periodontal tissues. **J. Periodontol.**, v. 47, n. 5, p. 256-260, 1976.
87. MELLO, J. B.; MELLO, G. P. S. Tipos de laser e indicações. Laser em odontologia. São Paulo: Ed. Santos, 2001. cap.4, p.39-51.
88. MESTER, E. et al. The stimulating effect of low power laser rays on biological systems. **Laser Rev.**, v. 1, p. 3, 1968.



89. MESTER, E. et al. Effect of laser rays on wound healing. **Am. J. Surg.**, New York, v. 122, n. 4, p. 532-535, Oct. 1971.
90. MESTER, S.; JASZSAGI-NAGY, E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen biosynthesis. **Stud. Biophys.**, v. 35, p. 227-230, 1973.
91. MESTER, S. Stimulation of wound healing by means of laser rays: clinical and electron microscopical study. **Acta Chir. Acad. Sci. Hung.**, Budapest, v. 14, n. 4, p. 347-354, 1973.
92. MESTER, E. et al. Laser stimulation of wound healing **Acta Chir. Acad. Sci. Hung.**, v. 17, n. 1, p. 49-55, 1976.
93. MESTER, E. et al. Laser stimulation of wound healing by means of laser rays. Part III Investigation of the effect on immune competent cells. **Acta Chir. Acad. Sci. Hung.**, v. 19, n. 2, p. 163-170, 1978.
94. MESTER, E.; MESTER, A. F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 5, n. 1, p. 31-39, 1985.
95. MISERENDINO, L. J.; PICK, R. M. **Laser in dentistry.**, Chicago. Quintessence, 1995. 247p.
96. MOSKOW, B. S.; TANNENBAUM, P. Enhanced repair and regeneration of periodontal lesions in tetracycline-treated patients. Case reports. **J Periodontol.**, v. 62, p. 341-350, 1991.
97. NÓBREGA, F. J. O. **Estudo Histológico da ação do Laser e da Terapia Fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide.** 2005. 151 f. Tese (Mestrado em Periodontia)- Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2005.

98. NOYAN, Ü. et al. A clinical and microbiological evaluation of systemic and local metronidazole delivery in adult periodontitis patients. **J. Clin. Periodontol.**, v. 24, p. 158-165, 1997.
99. NUSSBAUM, E.; LILGE, L.; MAZZULLI, T. Effects of 630, 660, 810 and 905 nm laser irradiation delivering radiant exposure of 1-50 J/cm<sup>2</sup> on three species of bacteria *in vitro*. **J. Clin Laser Med Surg.**, v. 20, n. 6, p. 325-333, 2002.
100. OKAMOTO, H.; IWASE, T.; MORIOKA, T. Dye-mediated bactericidal effect of He-Ne laser irradiation on oral microorganisms. **Lasers Surg Med.**, v. 12, p. 450-8, 1992.
101. OLIVEIRA, R. W.; GUIMARÃES, F. S. Anxiolytic effect of methylene blue microinjected into the dorsal periaqueductal gray matter. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 32, n. 12, p. 1529-1532, 1999.
102. OLIVEIRA, R. R. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. **J Periodontol.**, v. 78, n. 6, p. 965-73, 2007 Jun.
103. OLIVEIRA, R. R. et al. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results. **J Periodontol.**, v. 80, n. 1, p. 98-105, 2009 Jan.
104. PAGE, R. C.; KOMMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol 2000.**, v. 14, p. 9-11, 1997.
105. PERUSSI, J. R. **Inativação fotodinâmica de microrganismos Photodynamic inactivation of microorganisms.** Quím. Nova vol.30 no.4 São Paulo July/Aug. 2007.
106. PFITZNER, A. et al. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. **J Periodontol.** v. 75, n. 10, p. 1343-9, 2004 Oct.

107. PICK, R. M.; PECARO, B. C.; SILBERMAN, C. J. The laser gingivectomy. The use of the CO2 laser for the removal of phenytoin hyperplasia. **J Periodontol.**, v. 56, p. 492–496, 1985.
108. PILLATI, G. L. **Estudo *in vitro* da capacidade de remoção da *smear layer* da superfície radicular com o uso do gel de EDTA.** Influência da concentração, tempo, e forma de aplicação. 2001, 140f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de Periodontia) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.
109. PINHEIRO, A. L. B.; BRUGNERA JÚNIOR, A. Terapia Fotodinâmica. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast, 1998. p. 247-264.
110. PINHEIRO, S. L. et al. Capacity of photodynamic therapy for microbial reduction in periodontal pockets. **Lasers Med Sci.**, 2009 May 9.
111. POLSON, A. M.; PROYE, M. P. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. **J. Periodontol.**, v. 54, n. 3, p. 141-147, 1983.
112. POLSON, A. M. et al. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. **J. Periodontol.**, v. 55, n. 8, p. 443-446, 1984.
113. POLSON, A. M. et al. Multicenter comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. II. Clinical results. . **J. Periodontol.**, v. 68, p. 119-126, 1997.
114. PRATES, R. A. **Verde malaquita como fotossensibilizador em terapia fotodinâmica:** Ação bactericida sobre *Actinobacillus actinomycetemcomitans* - um estudo *in-vitro*. 2005. 37 f. Tese(Mestrado Profissionalizante em *Laser* em Odontologia)- Intituto de Pesquisas Energeticas Nucleares, São Paulo, 2005.

115. PRATES, R. A. et al. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **J Photochem Photobiol B.**, v. 86, p. 70-6, 2007.
116. QIN, Y. et al. Toluidine blue-mediated photoinactivation of periodontal pathogens from supragingival plaques. **Lasers Med Sci.**, v. 23, n. 1, p. 49-54, Epub 2007 Mar 15, 2008 Jan.
117. QIN, Y. L. et al. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. **J Periodontal Res.**, v. 43, n. 2, p. 162-7, 2008 Apr.
118. RABBANI, G. M.; CAFFESSE, R. G. The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. **J. Periodontol.**, v. 52, p. 119-123, 1981.
119. REGISTER, A. A.; BURDICK, F. A. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized *in situ*. II. Defect Repair **J. Periodontol.**, v. 47, n. 9, p. 497-505, 1976.
120. REZENDE, S. B. **Ação do diodo laser emitindo em 830 nm, sobre o processo de cicatrização de lesões cutâneas: estudo biométrico e histológico em ratos.** 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2001.
121. RICHART, R. M. A clinical Staining Test for the *in Vivo* Delineation of Dysplasia and Carcinoma *in situ*. **American Journal of Obstetrics and Gynecology.**, St. Louis, v. 86, n. 6, p. 703-712, jul., 1963.
122. ROCHA, W. C.; LORANDI, C. S.; MENDONÇA, E. F. Uso do azul de toluidina como método auxiliar na detecção de displasias epiteliais e carcinomas da mucosa bucal. **Rev. Odonto ciência.**, Porto Alegre, v. 21, p. 27-48, 1996.

123. RYDEN, H. et al. Effect of low levelenergy laser irradiation on gingival inflammation. **Swed. Dent. J.**, v. 18, n. 2, p. 35-41, 1994.
124. SARKAR, S.; WILSON, M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. **J. Periodontal. Res.**, v. 28, n. 3, p. 204-210, 1993.
125. SCHMIDT, S. et al. Photodynamic laser therapy of carcinomas effects of five different photosensitizers in the colonyforming assay. **Arch. Gynecol. Obstet.**, v. 249, n. 1, p. 9-14, 1991.
126. SETÚBAL, C. A. **Procura por novos fotossensibilizadores para uso em terapia fotodinâmica.** 2007. 101 f. Tese (Mestrado em Química)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
127. SHACKLEY, D. C. et al. Photodynamic therapy. **J. R. Soc. Med.**, London, v. 92, n. 11, p. 562-565, Nov., 1999.
128. SHIBLI, J. A. et al. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. **J Oral Sci.**, v. 45, p. 17-23, 2003.
129. SIGUSCH, B. W. et al. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. **J Periodontol.**, v. 76, n. 7, p. 1100-5, 2005 Jul.
130. SILVA NETO, U. T. **Efeito da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas provocadas em ratos diabéticos:** estudo morfométrico e histológico. 2004. 115 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas) – Faculdade de Ciências Odontológicas, Universidade de Marília, 2004.

131. SKRIPCHENKO, A.; ROBINETTE, D.; WAGNER, S. J. Comparison of methylene blue and methylene violet for photoinactivation of intracellular and extracellular virus in red cell suspensions. **Photochem. Photobiol.**, v. 65, n. 3, p. 451-455, 1997.
132. SLOTS, J. Subgingival microflora and periodontol disease. **J. Clin. Periodontol.**, v. 6, p. 351-382, 1979.
133. SLOTS, J. Bacterial specificity in adult periodontites. A summary of recent work. **J. Clin. Periodontol.**, v. 13, n. 10, p. 912-917, 1986.
134. SOARES, J. H. et al. Aspectos morfológicos e histométricos da reparação tecidual das feridas cutâneas de ratos após irradiação com laser de hélioneônio. **Acta Cir. Bras.**, v. 4, n. 2, p. 56-60, 1989.
135. SOCKANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Microbial complexes in subgingival plaque. **J. Clin. Periodontol.**, v. 25, p. 134-144, 1998.
136. SOUKOS, N. S. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and Streptococcus sanguis evaluated in vitro. **Lasers Surg Med.**, v. 18, p. 253-9, 1996.
137. STERN, R. H.; SOGNAES, R. F. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 85, n. 5, p. 1087-1090, Nov. 1972.
138. SURINCHACK, J. S. et al. Effects of low-level energy lasers on the healing of full thickness skin defects. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 2, p. 267-274, 1983.
139. TEICHERT, M. C. et al. Treatment of oral candidiasis with methylene blue mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 93, n. 8, p. 155-160, 2002.

140. THEODORO, L. H. et al. Effect of Er-YAG and diode Laser irradiation on the root surface: morphological and thermal analysis. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 6, p. 838-843, 2003.
141. TOMASELLI, F. et al. Acute effects of combined photodynamic therapy and hyperbaric oxygenation in lung cancer—a clinical pilot study. **Lasers Surg Med.**, v. 28, p. 399-403, 2001.
142. USACHEVA, M.; TEICHERT, M. C.; BIEL, M. A. Comparison of the methylene blue and toluidina blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. **Lasers Surg. Med.**, v. 29, p. 165-173, 2001.
143. VAN STEENBERGHE, D.; BERCY, P.; KOHL, J. Subgingival minocycline hydrochloride ointment in moderate to severe chronic adult periodontitis: a randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicenter study. **J. Periodontol.**, v. 64, p. 637-644, 1993.
144. VAN WINKELHOFF, A. J.; RAMS, T. E.; SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. **Periodontol 2000.**, v. 10, p. 45-78, 1996.
145. WAERHAUG, J. Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. II – As observed on extracted teeth. **J. Periodontol.**, v. 49, n. 3, p. 119-134, 1978.
146. WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 42, p. 13-28, 1998.
147. WAINWRIGHT, M. et al. Photobactericidal activity of methylene blue derivatives against vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 44, n. 6, p. 823-825, 1999.
148. WILSON, B. D.; MANG, T. S.; STOLL, H. et al. Photodynamic therapy for the treatment of basal-cell carcinoma. **Arch Dermatol.**, v. 128, n. 12, p. 1597-601, 1992.

149. WILSON, M.; MIA, N. Sensitisation of *Candida albicans* to killing by low-power laser light. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 22, n. 8, p. 354-357, 1993.
150. WILSON, M. Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases. **Int. Dent. J.**, v. 44, n. 2, p. 181-189, 1994.
151. WILSON, M. et al. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. **J. App. Bacteriol.**, v. 78, n. 3, p. 569-574, 1995.
152. YAMADA JR, A. M. Effects of photodynamic therapy in periodontitis induced in rats (in Portuguese).[Thesis]. São Paulo, SP: Institute of Energetic and Nuclear Research; 2007. 87p.
153. YILMAZ, S. et al. Effect of Galium Arsenide Diode Laser on human periodontal disease: a microbical and clinical study. **Lasers Surg Med.**, v. 60, p. 60-66, 2002.
154. ZANIN, I. C. J. et al. Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. **Eur J Oral Sci.**, v. 114, p. 64-49, 2006.
155. ZARET, M. M. et al. Laser photocoagulation of eye. **Arch. Uphth.**, v. 69, p. 97, 1963.