

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado somente
a partir de 28/03/2021.

Marta Aparecida Alberton Nuernberg

**Efeito do fotossensibilizador butyl azul de
toluidina na terapia fotodinâmica
antimicrobiana para o tratamento da
periodontite experimental em ratos**

**Araçatuba – SP
2019**

Marta Aparecida Alberton Nuernberg

**Efeito do fotossensibilizador butyl azul de
toluidina na terapia fotodinâmica
antimicrobiana para o tratamento da
periodontite experimental em ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - UNESP, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Doutor em Odontologia,
área de concentração em Periodontia

Orientadora: Profa. Associada Letícia Helena
Theodoro

Co-orientador: Prof. Titular Valdir Gouveia Garcia

**Araçatuba – SP
2019**

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

N964e Nuernberg, Marta Aparecida Alberton.
Efeito do fotossensibilizador butyl azul de toluidina na terapia fotodinâmica antimicrobiana para o tratamento da periodontite experimental em ratos / Marta Aparecida Alberton Nuernberg. - Araçatuba, 2019
80 f. : il. ; tab.

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

1. Periodontite 2. Raspagem dentária 3. Fotoquimioterapia
4. Modelos animais de doenças I. T.

Black 6
CDD 617.63

Marta Aparecida Alberton Nuernberg

- Nascimento:* 10.08.1990 Verê - PR
- Filiação:* Alcindo Renatt Nuernberg
Clarice Alberton Nuernberg
- 2008 - 2013:* **Graduação em Odontologia**
UFPR – Universidade Federal do Paraná
- 2013 - 2014:* **Aperfeiçoamento em Implantodontia**
ABO/PR – Associação Brasileira de Odontologia
- 2013 - 2015:* **Mestrado em Odontologia**
UFPR – Universidade Federal do Paraná
- 2015 - 2019:* **Doutorado em Odontologia – Área de Periodontia**
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP
- 2018 - 2019:* **Docente do Curso de Graduação em Odontologia**
UNIRP – Centro Universitário de Rio Preto

Dedico esta conquista aos grandes amores da minha vida:

Meus Pais

O amor, o apoio imensurável e todos os ensinamentos que deles eu recebo são os alicerces da minha vida e da minha carreira profissional.

Eu saí de casa muito cedo e, infelizmente, nunca mais voltei. Mas, se tem algo que eu sinto falta todos os dias é isso. São eles. Eles são minha saudade rotineira. Minha fala emocionada. O número de telefone que eu ligo pra recarregar as forças e nutrir a fé em tudo. Eles são meu abrigo à distância e a certeza de que eu jamais estou sozinha.

Quando decidi pelo curso de doutorado da FOA/UNESP, eu sabia que seriam anos de muitas saudades e distância, e posso afirmar que este foi o maior desafio desta caminhada. Lembro-me perfeitamente de sentar com minha mãe na frente do computador e pesquisar as linhas de ônibus entre a minha cidade e Araçatuba. Naquele dia eu tive a certeza de que grandes desafios me esperavam. Recomeçar, fazer novas amizades, me adaptar com a nova cidade e diminuir a frequência de retorno para a minha casa. Meus pais também estavam cientes disso tudo e jamais me limitaram. Pelo contrário, falamos religiosamente todos os dias pelo telefone e o amor que eu recebo deles me faz seguir em frente e me inspira a dar sempre o melhor de mim. Meus pais são os maiores exemplos de força, generosidade, sabedoria e humildade da minha vida. São minha fonte de amor inesgotável. Eles são a base tudo! Eles são tudo!

Meus queridos pais,

Alcindo e Clarice.

Meus guerreiros, meus heróis. Minha admiração por vocês é imensurável.

Obrigada por jamais desistirem de lutar pela nossa família! Obrigada por construírem um lar tão doce e acolhedor! Obrigada por serem tão fortes e tão batalhadores. Obrigada por me permitirem trilhar meus próprios caminhos. Obrigada por cada sacrifício que tiveram que fazer pra que eu chegasse até aqui. Obrigada por serem sempre o meu porto seguro. Obrigada por entenderem minha ausência e por sempre se fazerem presentes em tudo.

Esta conquista não é minha, esta conquista é nossa!

Amo vocês infinitamente!

“O amor é a força mais sutil do mundo.”

Mahatma Gandhi

Agradecimentos Especiais

Ao meu guia e protetor,

Deus.

“I touch the sky when my knees hit the ground”

A *Deus* toda minha gratidão, meu amor e minha fé!

Nos momentos mais difíceis onde me fiz íntima de Ti. Nos momentos onde te encontrei nos sorrisos, olhares e abraços das pessoas que passaram pela minha vida. Nos momentos em que a fé e meu amor por Ti deram mais sentido pra tudo. Nos momentos em que sua paz me tranquilizou e me encheu de esperança.

Em todos os momentos...

Sua presença transformou, me fez forte, me trouxe paz e alegrou o meu ser.

Não sei qual a Sua forma, mas sinto a imensidão do Seu amor. Minha prece é para que eu jamais me esqueça de Ti e tenha a sensibilidade para perceber Sua presença nas coisas mais simples dos meus dias.

Obrigada Senhor por cada pessoa, cada oportunidade e cada desafio.

“Muitas vezes as pessoas são egocêntricas, ilógicas e insensatas.
Perdoe-as assim mesmo

Se você é gentil, as pessoas podem acusá-lo de interesseiro.
Seja gentil assim mesmo.

Se você é um vencedor, terá alguns falsos amigos e alguns inimigos verdadeiros.
Vença assim mesmo.

Se você é honesto e franco, as pessoas podem enganá-lo.
Seja honesto e franco assim mesmo.

O que você levou anos para construir, alguém pode destruir de uma hora para outra.
Construa assim mesmo.

Se você tem paz e é feliz, as pessoas podem sentir inveja.
Seja feliz assim mesmo.

O bem que você faz hoje, pode ser esquecido amanhã.
Faça o bem assim mesmo.

Dê ao mundo o melhor de você, mas isso pode não ser o bastante.
Dê o melhor de você assim mesmo.

Veja você que, no final das contas, é tudo entre você e Deus.
Nunca foi entre você e os outros.”

Madre Tereza de Calcutá

Marta Nuernberg

Agradecimentos Especiais

Ao meu amado irmão,

Luiz Antônio Nuernberg.

“Ter o amor de um irmão na vida é saber que nunca se estará só, pois aconteça o que acontecer esse laço jamais será quebrado” – Autor desconhecido

Lu,

Olhando retrospectivamente pra minha vida eu vejo como a sua presença direcionou e moldou meus caminhos, meu jeito de ser e minhas escolhas. Sou eternamente grata a Deus por me conceder esse presente divino chamado irmão. Sou ainda mais grata a Ele por ter a sorte de ser Você. Doce, desde pequeno responsável, dedicado, amoroso e nosso maior protetor. Meu protetor. Protetor da Mãe. Protetor do Pai.

Embora você seja uma das pessoas que mais me questiona sobre o tempo a mais que passarei longe de vocês, a pessoa que mais me pede pra voltar pra casa e a pessoa que mais anseia por voos meus mais próximos do ninho... Você, contraditoriamente, é um dos grandes responsáveis pela realização deste grande sonho meu. Você me deu todo amparo e segurança para que eu pudesse me ausentar. Você foi e é o meu maior apoio e a minha força para estar longe. Eu não sei se conseguiria sem Você.

Eu te amo além dessa vida! Mesmo longe eu estarei sempre contigo! Obrigada por existir!

Marta Nuernberg

Agradecimentos Especiais

Ao meu companheiro amado,

Danilo Carvalho Luciano.

Meu amor,

Sou grata a Deus por me presentear com alguém tão especial! Você estava ao meu lado quando eu sonhava em ingressar no curso de doutorado e permaneceu ao meu lado todos os dias, mesmo quando estávamos separados por quilômetros de distância.

Você ouviu atentamente todos os meus relatos empolgados e todas as minhas pequenas grandes descobertas ao longo do curso. Acolheu minhas angustias e as frustrações do dia a dia. Vibrou comigo todas as vezes em que eu parei pra refletir na minha felicidade em estar trilhando o caminho que sempre sonhei. Me impulsionou a jamais desistir e me estimulou a jamais deixar de valorizar tudo que eu estava aprendendo e vivenciando. Em você encontrei o descanso para os meus dias de turbulência, minha paz em dias difíceis, minha força extra quando tudo parecia confuso. Você foi o meu maior incentivador e, por muitas vezes, acreditou mais em mim do que eu mesma.

Foram muitas noites, finais de semana e feriados estudando juntos. E isso jamais se tornou algo pesado para nós dois. Qualquer esforço se diluía naquele tempo em que cada um, em sua mesa de estudo, deu apoio ao outro.

Obrigada por todo seu amor, sua compreensão e seu companheirismo ao longo destes anos!

Obrigada por jamais medir esforços para estar ao meu lado!

Obrigada por ser tão cuidadoso comigo e por tornar essa jornada muito mais fácil!

Esta conquista não seria a mesma sem você ao meu lado!

Eu te amo muito e cada dia mais!

Marta Nuernberg

Agradecimentos Especiais

Ao meu querido e amado “Tio Padre”,

Elcio Alberton.

“Sejamos atentos uns aos outros para incentivar a caridade e as boas obras porque será usada conosco a mesma medida que usamos com os outros. Que o Senhor nos dê mãos puras e coração inocente” – Pe. Elcio Alberton

Tio querido,

Não tenho palavras pra agradecer por tudo que já fez por mim. Desde pequena você me impulsiona a buscar o melhor que eu posso ser. Você se preocupa comigo. Você torce, vibra e participa de todas as minhas pequenas e grandes conquistas.

Desde pequena coleciono momentos onde suas palavras foram marcantes na minha vida. Desde pequena eu soube que poderia contar com você sempre, pra tudo. Desde pequena eu guardo as muitas razões pra ser grata por toda a sua atenção, seu carinho e seu cuidado comigo.

Quero que saiba que essa conquista tem muito da sua influência. Você também é responsável por ela!

Deus foi tão generoso comigo que me presenteou com um pai extra! Obrigada por tudo, tio! Admiro profundamente a pessoa, o padre, mestre e escritor que você é! Te amo!

Marta Nuernberg

À minha orientadora **Leticia Helena Theodoro** e ao meu co-orientador **Valdir Gouveia Garcia**. Considero justo falar de ambos simultaneamente pois, desde que os conheci, sempre foram indissociáveis. Os caminhos que me levaram até o curso de doutorado da FOA-UNESP envolveram diretamente a figura destes mestres e a minha admiração por eles.

“Há pessoas que marcam a nossa vida, que despertam algo especial em nós, que abrem nossos olhos de modo irreversível e transformam a nossa maneira de ver o mundo.” – Autor desconhecido

Professora Leticia Helena Theodoro,

Receba todo meu carinho, admiração e gratidão!

Estes anos ao seu lado me ensinaram muito. Aprendi ao observar a sua seriedade com o trabalho, sua postura como docente e como pessoa, seu coração de mãezona contrastado com seu pulso firme, e seu comprometimento com a ciência. Sou muito grata por todo carinho que teve comigo, pela confiança que depositou em mim e pela oportunidade de aprender ao seu lado.

Muito obrigada por sua orientação, por todas as oportunidades, pelas conversas inteligentes, por seus conselhos e por sua amizade. Espero que o destino nos proporcione muitos encontros ao longo da vida. Sentirei saudades da rotina de conversas na sua sala, do cafezinho, da sua forma dinâmica de trabalhar e da sua companhia. Conte sempre comigo!

Professor Valdir Gouveia Garcia,

Poucas são as pessoas capazes de nos acolher através do olhar – o Senhor é uma destas poucas pessoas. Admiro profundamente sua humildade, seriedade, doçura e sabedoria. Tenho muito orgulho em dizer que fui co-orientada pelo Senhor. Dono de ideias inovadoras e minha maior referência no estudo do laser. Sua história e seu jeito de ser são inspiradores.

Obrigada por todas as oportunidades e por toda confiança depositada. Obrigada por me fazer pensar no futuro com olhos atentos e pés no chão. Levarei para sempre comigo todas as conversas e os bons conselhos que recebi do Senhor. Espero que por onde eu passar eu possa deixar as portas abertas para voltar, como o Senhor sabiamente faz.

Queridos Mestres,

Obrigada por me permitirem explorar tantas possibilidades dentro da pesquisa. Obrigada por me impulsionarem a conhecer e executar diferentes técnicas e análises. Obrigada por me instigarem a viver o doutorado na sua maior magnitude. Obrigada por todas as oportunidades, por cada desafio e cada momento de aprendizado vivido ao lado de vocês. Tenham certeza que estes anos foram marcantes na minha vida e transformaram minha forma de ver o mundo, como pessoa e profissional. Obrigada!

Dentre todas as boas memórias que levarei de Araçatuba, estará para sempre guardado no meu peito a simplicidade das pessoas que por aqui conheci. Tantas pessoas de coração bonito! Na tranquilidade dessa cidade, que apesar de grande se comporta como cidade pequena, eu conheci pessoas que me acolheram nos seus sorrisos, que me ajudaram tantas vezes, que trouxeram inspiração e alegria para minha jornada. A todos eles, meu carinho e gratidão.

Meus sinceros agradecimentos aos grandes mestres que marcaram meus caminhos dentro do curso de doutorado...

À querida e dedicada Professora **Cristiane Duque**. Dona de uma mente brilhante e de uma agenda atarefada. Que imenso prazer poder aprender ao seu lado! Apesar de experimentos nem sempre bem-sucedidos, meus dias no laboratório de biologia molecular me ensinaram muito e me proporcionaram uma experiência jamais pensada. Obrigada por todos os ensinamentos, pelo exemplo de amor a ciência e dedicação sem medidas. Obrigada pelas conversas inspiradoras e por sua amizade. A Senhora teve uma participação muito especial e significativa na minha formação como pesquisadora. Obrigada por tudo!

Ao querido e inspirador Professor **Edilson Ervolino**. O Senhor acrescentou muito na minha formação. Acrescentou como docente, pelo exemplo de didática e amor ao ensinar. Acrescentou ao demonstrar sua forma coerente e exigente a nos conduzir nos trabalhos em laboratório. Acrescentou como pesquisador, ao demonstrar tanta dedicação e perfeccionismo em tudo que faz. Acrescentou por suas conversas sempre muito sérias e, ao mesmo tempo, tão acolhedoras e tranquilizantes. Acrescentou como pessoa, pela elegância e o cuidado com as palavras. Obrigada por tudo! Sempre lembrarei do Senhor com grande carinho.

Ao querido e especial Professor **Leonardo Faverani**. Cada encontro com o Senhor deixou um aprendizado em minha vida. Sempre me impressiono com sua forma natural de nos passar tranquilidade, afeto e muito conhecimento. Um docente que não precisa se sentir superior a ninguém para demonstrar o tamanho da sua superioridade. Obrigada por contribuir na minha formação de forma direta e indireta. Receba minha admiração e meu carinho. Muito obrigada!

Aos queridos e inspiradores Professores **Juliano de Almeida Milanezi** e **Álvaro Bosco**, pelos importantes ensinamentos dentro da periodontia cirúrgica. A delicadeza e precisão demonstradas nas clínicas de cirurgia periodontal despertaram em mim um olhar mais detalhista e me fazem buscar sempre o melhor na prática clínica. Recebam meu carinho e minha admiração. Muito obrigada pela dedicação, pelos detalhes e pelo amor ao ensinar!

My special thanks to Professor **Mark Wainwright** from Liverpool John Moores University (LJMU). It was an honor and joy to have the opportunity to work with this brilliant researcher. Without a doubt, this exchange of experiences brought a very significant gain to my PhD course. I am very happy and grateful for the opportunity to contribute in the research for the advancement of the aPDT and especially alongside special people. This partnership was a gift during my doctorate and will always be remembered with affection. Thank you for the great partnership, for the inspiration and the attention with my research study!

À querida Professora **Maria José Nagata**, por compartilhar comigo um pouco da sua sabedoria e experiência de vida nas nossas conversas no departamento e nas aulas de periodontia. Admiro sua elegância e conhecimento.

À querida Professora **Roberta Okamoto**, pelo exemplo de profissional e pessoa. Minhas visitas ao departamento de Ciências Básicas sempre foram acompanhadas por uma conversa doce e inspiradora desta Professora singular. Admiro sua competência, sua forma de trabalhar e seu jeito de ser. Obrigada por tudo!

Aos excelentes docentes que conheci durante minha jornada na FOA/UNESP, os quais me trouxeram grandes aprendizados: **Daniela Atili Brandini, Daniel Galera Bernabé, Glauco Issamu Miyahara e Kellen Cristine Tjioe.**

Aos Professores **Alex Nogueira Haas** (Universidade Federal do Rio Grande do Sul), **Renato Casarin** (Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP) e **Raquel Caminaga** (Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP), pela parceria desenvolvida durante minha pesquisa para o Exame Geral de Qualificação com indivíduos com Síndrome de Down.

Minha sincera gratidão aos colegas que estiveram comigo nesta caminhada...

Aos meus queridos colegas da pós-graduação **Fred Lucas, Breno Alves, Camila Ivanaga, David Gusman, Henrique Rinaldi, João Martins, Daniela Janjacom, Vivian Noronha, Paula Faleiros, Ana Carolina, Luiz Fiorin, Luan Toro e Mariane Bocalon** pela companhia prazerosa ao longo destes anos. A pós-graduação ficou muito mais leve com vocês ao meu lado! Cada um de vocês contribuiu de uma maneira diferente para minha formação e deixará memórias que levarei para sempre! Espero reencontrar vocês muitas e muitas vezes. Um agradecimento especial para **Daniela Janjacom**, a qual me auxiliou em diferentes fases desta

pesquisa e dividiu comigo a sua experiência em estudos pré-clínicos. Agradeço também de forma especial a querida **Camila Ivanaga** por me acompanhar e me auxiliar durante o desenvolvimento da minha pesquisa clínica no Centro de Assistência a Pessoa com Deficiência (CAOE).

Aos queridos alunos da graduação **Vitor Scalet, Júlia Batista e Beatriz Goulart** que ajudaram ativamente nos projetos de pesquisa e estiveram ao meu lado tantas vezes ao longo do curso de doutorado. Sou muito grata a todos vocês! Um agradecimento especial ao querido **Vitor Scalet**, o qual foi meu braço direito durante a fase experimental desta pesquisa e em muitas análises laboratoriais. Sempre pronto a ajudar em todos os momentos em que eu precisei de auxílio. Obrigada pelo comprometimento que demonstrou no biotério e pela dedicação a esta pesquisa. Agradeço também aos alunos **Luy de Abreu, Jessica Santana e Vinicius Ganzaroli** pelo auxílio importante durante o processamento das minhas lâminas para análise imunoistoquímica. Muito obrigada!

Meu agradecimento especial aos amigos que cultivei na pós-graduação...

O dicionário define a amizade como “afeto pessoal, puro e desinteressado, compartilhado com outra pessoa, que nasce e se fortalece com o cuidado”. Os laços de amizade que construí em Araçatuba representaram um ponto de apoio importante durante o meu doutorado e me trouxeram ganhos que levarei para toda vida.

À querida amiga **Marina Módulo Claudio**. Minha família em Araçatuba. Minha companheira de trabalho, de planos, experimentos, tabulação de dados, sondagens, cafés, de desespero e de alegria. Nossa proximidade foi tanta durante o curso que eu não consigo imaginar meu doutorado sem a sua risada larga, sua dedicação e seu jeito (às vezes desajeitado) de ser. Sua amizade foi e é muito importante para mim. Obrigada por todo apoio, por todas as conversas e por todo companheirismo. Tenho muito orgulho da grande profissional que você se tornou! Conte sempre comigo, minha dupla da Perio!

Às queridas e doces **Daniela Sá, Natália de Campos Kajimoto e Nathalia Januário**. Que alegria poder ter vocês ao meu lado nessa caminhada! Obrigada por nunca medirem esforços pra me ajudar e me receberem sempre de braços abertos. Vocês são inspiradoras! Admiro imensamente a leveza que conseguem ter, mesmo sempre tão atarefadas. Muita gratidão e muito carinho por vocês! Quero ter vocês por perto sempre!

Às amigas **Jéssica Gomes, Natália Colombo, Karina Caiaffa e Thayse Hosida**, que apesar de serem de outros departamentos, entraram na minha vida aos poucos e hoje possuem um lugar especial no meu coração.

Agradeço também aos caminhos que me trouxeram até aqui, as instituições de ensino que me acolheram, aos professores e pessoas que fizeram parte da minha formação e aos amigos que permanecem ao meu lado. Acredito que nós somos uma soma de tudo que vivemos e somos constantemente moldados de acordo com as situações e pessoas que cruzam a nossa vida.

“Não existe o esquecimento total: as pegadas impressas na alma são indestrutíveis”

Thomas De Quincey

Meu agradecimento singelo...

À amada **Universidade Federal do Paraná**, a qual me deu a formação de cirurgiã-dentista e mestra em odontologia. Nesta importante instituição eu vivi experiências impagáveis, guiada por profissionais de alta qualidade e em serviços extremamente diferenciados. Meu agradecimento a todos os professores que fizeram parte da minha formação profissional e que, indiretamente, contribuíram para o meu amadurecimento e crescimento como pessoa. A UFPR estará para sempre guardada em meu peito com muito carinho, respeito e gratidão.

Ao querido e especial Professor **Cassius Carvalho Torres Pereira**. Meus primeiros passos dentro da vida acadêmica foram dados ainda na graduação, com a tutela deste grande mestre. Sorte a minha entrar neste meio sendo guiada por um profissional extremamente crítico, exigente e correto com a ciência. Ao concluir meu curso de doutorado eu olho para trás e vejo como foram importantes as experiências que eu vivi dentro do PET (Programa de Educação Tutorial), no Hospital de Clínicas e no curso de mestrado. A soma de cada aprendizado, cada novo desafio e cada conversa com este professor singular me fizeram mergulhar no doutorado com mais sabedoria - *“Um bom mestre é aquele que inspira seus alunos a aprender e os ensina a pensarem por si mesmos”* - Obrigada por confiar em mim e me proporcionar tantos aprendizados, tantas oportunidades e tanto crescimento. O Senhor será para sempre uma grande inspiração como mestre e pesquisador! Conte sempre comigo!

Às amigas **Camila Furquim, Cristina Berrocal, Gabriela Schumacher, Angéli Niemes, Aline Louise e Daian Orben** que comemoraram comigo a aprovação no curso de doutorado e mesmo à distância fizeram parte desta trajetória através de mensagens de incentivo, de ouvidos

atentos e boa conversa. Em especial, agradeço as amigas-irmãs **Camila Furquim** e **Cristina Berrocal** pelas tantas vezes que me impulsionaram e me mostraram como eu posso ser capaz. Amo vocês.

À querida **Katiane Fedrigo**. Chegou aos pouquinhos na nossa família e hoje é uma parte de nós. Cunhada, amiga e companheira dessa jornada acadêmica. Agradeço por todos os momentos compartilhados, pelas conversas sobre o mundo da pós-graduação e por se fazer presente em nossa família! Sempre pronta e disposta para ajudar! Obrigada por tudo!

Ao Professor **João Paulo Steffens**, por todas as conversas sobre a periodontia e os caminhos da docência, pelo exemplo de profissional e por aceitar participar como membro suplente da minha defesa de tese.

Finalmente, agradeço aos pilares (muitas vezes ocultos) que fizeram com que esta pesquisa e a minha passagem pela pós-graduação fosse possível...

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, na pessoa do diretor **Prof. Tit. Wilson Roberto Poi**, o qual sempre me recebeu com imenso carinho e atenção, e do Senhor Vice-Diretor **Prof. Tit. João Eduardo Gomes Filho** pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Ao **Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, **Prof. Adj. André Luiz Fraga Briso**, pela competência e afincamento na condução da nossa pós-graduação. Estendo os meus sinceros agradecimentos ao vice-coordenador, o **Prof. Adj. Wirley Gonçalves Assunção**.

Ao Coordenador do **Comitê de Ética no Uso Animal – CEUA** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Prof. Dr. Leonardo Perez Faverani** e ao funcionário de CEUA, **Washington** pela competência e auxílio.

Ao **Centro de Assistência Odontológica à Pessoa com Deficiência (CAOE)** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Meu sincero agradecimento às Professoras **Alessandra Marcondes Aranega** e **Rita Cássia**

Menegati Dornelles, e a todos os profissionais do Centrinho, pela oportunidade de desenvolver minha pesquisa do Exame Geral de Qualificação neste serviço mais do que especial, com indivíduos com Síndrome de Down e suas famílias. Agradeço imensamente pela confiança depositada em mim, pela alegria em participar da organização do 1º Encontro de Síndrome de Down, pelos momentos enriquecedores vividos e por todo aprendizado. Obrigada!

Aos funcionários do departamento de Cirurgia e Clínica Integrada – **Marco de Oliveira Ianner, Ivete Castro, Gabriela Rezende, Paulo Roberto Gratão e Renato Gomes de Oliveira** pela disposição em ajudar. A todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Ana Cláudio Manzatti, Cláudio Hideo Matsumoto, Luís Cláudio Sedlacek, Denise Maeda, Maria Cláudia Benez e Ana Paula Rimole**, pela atenção e orientação prestadas.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Lilian Syuri Mada Pinheiro, Valéria Queiroz Marcondes Zagatto e Cristiane Regina Lui Matos** pela dedicação e comprometimento com o trabalho, e por toda atenção dispensada.

Aos vigias da Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Marcio, Marco e William** pelo zelo e atenção com a nossa segurança. Agradeço também aos funcionários do Biotério, **Camilo e Arnaldo**, pela contribuição importante para a realização deste estudo experimental.

Aos **animais**, por nos permitirem aprender e contribuir para o desenvolvimento da ciência.

Aos **pacientes com Síndrome de Down e suas famílias**, assim como os **pacientes atendidos nos projetos de extensão e de pesquisa**, meu eterno agradecimento pela confiança depositada. Obrigada por me permitirem aprender além da odontologia e contribuírem para aprimorar minhas habilidades como cirurgiã-dentista.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão de Bolsa de Doutorado. Meus sinceros agradecimentos pelo apoio financeiro, que possibilitou a minha permanência na cidade e a realização deste curso.

O Alto Preço de Viver Longe de Casa

(...)

A vida de quem inventa de voar é paradoxal, todo dia. É o peito eternamente dividido. É chorar porque queria estar lá, sem deixar de querer estar aqui. É ver o céu e o inferno na partida, o pesadelo e o sonho na permanência. É se orgulhar da escolha que te ofereceu mil tesouros e se odiar pela mesma escolha que te subtraiu outras mil pedras preciosas.

O preço é alto. A gente se questiona, a gente se culpa, a gente se angustia. Mas o destino, a vida e o peito às vezes pedem que a gente embarque. Alguns não vão. Mas nós, que fomos, viemos e iremos, não estamos livres do medo e de tantas fraquezas. Mas estamos para sempre livres do medo de nunca termos tentado.

(...)

Ruth Manus

NUERNBERG, MAA. Efeito do fotossensibilizador butyl azul de toluidina na terapia fotodinâmica antimicrobiana para o tratamento da periodontite experimental em ratos. [Tese de Doutorado]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2019.

O presente estudo avaliou pela primeira vez “in vivo” os efeitos de três concentrações do butyl azul de toluidina (BuTB) como agente fotossensibilizador na terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), como terapia coadjuvante a raspagem e alisamento radicular (RAR), para o tratamento de periodontite experimental (PE) em ratos. A PE foi induzida por meio da instalação de um fio de algodão ao redor do primeiro molar inferior esquerdo. Posteriormente os animais foram aleatoriamente distribuídos em 7 grupos com 15 animais cada, através de uma tabela gerada por computador, de acordo com os seguintes tratamentos: RAR (n=15) - RAR seguido de irrigação local de solução salina fisiológica; BuTB-0,1 (n=15) - RAR seguido de aplicação local de BuTB na concentração de 0,1 mg/mL; aPDT-0,1 (n=15) - RAR seguido da aplicação local de BuTB na concentração de 0,1 mg/mL e irradiação com laser de diodo (LD) de InGaAlP (660 nm, 40 mW, 60 s, 2,4 J); BuTB-0,5 (n=15) – RAR seguido de aplicação local de BuTB na concentração de 0,5 mg/mL; aPDT-0,5 (n=15) – RAR seguido da aplicação local de BuTB na concentração de 0,5 mg/mL e irradiação com LD; BuTB-2,0 (n=15) - RAR seguido de aplicação local de BuTB na concentração de 2 mg/mL; aPDT-2,0 (n=15) - RAR seguido da aplicação local de BuTB na concentração de 2 mg/mL e irradiação com LD. Decorridos 7, 15 e 30 dias pós-tratamento, 5 animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia. A área de furca dos molares foi submetida às análises histológica, histométrica e dos padrões de imunomarcção para TGF- β 1, OCN e TRAP. Os dados foram submetidos à análise estatística ($\alpha = 5\%$). De acordo com a análise histométrica na região de furca, todos os grupos experimentais apresentaram menor perda óssea comparado ao grupo controle. Histologicamente, os espécimes do aPDT-0,5 apresentaram uma resposta inflamatória local

mais branda e menos extensa, com melhor reestruturação tecidual em todos os períodos. Aos 30 dias observou-se resolução total da resposta inflamatória local, com presença de tecido conjuntivo denso. Alguns espécimes apresentavam trabéculas ósseas com contorno regular revestido com osteoblastos ativos, incluindo áreas de neoformação óssea. O tratamento com aPDT na concentração de 0,5 mg/mL resultou em padrões mais altos de imunomarcação de TGF- β 1 em todos os períodos e de OCN aos 30 dias. Diante dos resultados obtidos, todas as concentrações do novo fotossensibilizador BuTB trouxeram resultados adicionais ao tratamento da PE em relação a RAR. No entanto, a aPDT realizada com a concentração de 0,5 mg/mL resultou em benefícios adicionais na resposta inflamatória local e melhor reestruturação tecidual.

Palavras-chave

Periodontite; Raspagem dentária; Fotoquimioterapia; Modelos animais de doenças.

NUERNBERG, MAA. Effects of butyl toluidine blue photosensitizer on antimicrobial photodynamic therapy for experimental periodontitis treatment in rats. [Tese de Doutorado]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2019.

The present study evaluated for the first time the effects of three concentrations of butyl toluidine blue (BuTB) as a photosensitizing agent on antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), as adjuvant therapy to scaling and root planing (SRP), for the treatment of experimental periodontitis (EP) in rats. EP was induced by placing a cotton thread around the lower left first molar. Subsequently, the animals were randomly distributed into seven groups with 15 animals each, through a computer generated table, according to the following treatments: SRP (n = 15), SRP followed by local irrigation of physiological saline solution; BuTB-0.1 (n = 15), SRP followed by local application of 0.1 mg/mL BuTB; aPDT-0.1 (n = 15), SRP followed by local application of BuTB at 0.1 mg/mL concentration and irradiation with InGaAlP diode laser (DL) (660 nm, 40 mW, 60 s, 4 J); BuTB-0.5 (n = 15), SRP followed by local application of BuTB at 0.5 mg/mL concentration; aPDT-0.5 (n = 15), SRP followed by local application of BuTB at 0.5 mg/mL concentration and DL irradiation; BuTB-2.0 (n = 15), SRP followed by local application of BuTB at 2 mg/mL concentration; aPDT-2.0 (n = 15), SRP followed by local application of BuTB at 2 mg/mL concentration and DL irradiation. The animals (n=5) from each group were submitted to euthanasia at 7, 15 and 30 days post-treatment. The furcation area of the first lower molar was submitted to histological, histometric and immunohistochemical analyses to identify TGF- β 1, OCN and TRAP. The data were submitted to statistical analysis ($\alpha = 5\%$). According to the histometric analysis in the furcation region, all experimental groups presented lower bone loss compared to the control group. Histologically, the aPDT -0.5 specimens presented a milder and less extensive local inflammatory response, with better tissue remodeling in all periods. Total resolution of the local inflammatory response was observed at 30 days with presence of mature connective tissue. Some specimens presented bone trabeculae

with a regular contour and active osteoblasts, including areas of bone neoformation. Treatment with aPDT-0.5 also resulted in higher immunolabelling patterns of TGF β 1 at all periods and of OCN at 30 days. All concentrations of the new photosensitizer BuTB resulted in significant improvement for EP treatment in relation to SRP. However, aPDT combined with BuTB at 0.5 mg / mL showed the best benefits for inflammatory response and periodontal repair process.

Keywords

Periodontitis; Dental Scaling; Photochemotherapy; Animal disease model.

LISTA DE FIGURAS

Figure 1

56

Photomicrographs of the left mandibular first molar with experimental periodontitis showing magnitude of local inflammatory response, level of alveolar bone loss, and alveolar repair process in BuTB-0.1 (a), BuTB-0.5 (b), BuTB-2.0 (c), aPDT-0.1 (d), aPDT-0.5 (e), aPDT-2.0 (f), SRP (g) at 7 days. Abbreviations and symbols: asterisks, inflammatory infiltrate; ab, alveolar bone; ct, connective tissue. Original magnification: 200x. Scale bars: 250 μ m. Staining: hematoxylin and eosin (H & E).

Figure 2

57

Photomicrographs of the left mandibular first molar with experimental periodontitis showing magnitude of local inflammatory response, level of alveolar bone loss, and alveolar repair process in BuTB-0.1 (a), BuTB-0.5 (b), BuTB-2.0 (c), aPDT-0.1 (d), aPDT-0.5 (e), aPDT-2.0 (f), SRP (g) at 30 days. Abbreviations and symbols: asterisks, inflammatory infiltrate; ab, alveolar bone; ct, connective tissue. Original magnification: 200x. Scale bars: 250 μ m. Staining: hematoxylin and eosin (H & E).

Figure 3

58

Mean and standard deviation of the area of alveolar bone loss (mm^2) in the furcation region of the left mandibular first molar, in the different experimental groups and evaluation periods. Abbreviations and symbols: ABL, alveolar bone loss; †, Statistically significant difference in relation to the SPR group at 7 days; ‡, Statistically significant difference in relation to the SPR group at 15 days; ¶, Statistically significant difference in relation to the SPR group at 30 days.

Immunolabeling pattern for TGF- β 1 in the furcation region of the left mandibular first molar. (a) Median and interquartile deviation of the scores attributed to the immunolabeling pattern for TGF- β 1. (b-h) Photomicrographs showing immunolabeling pattern for TGF- β 1 in SRP (b), BuTB-0.1 (c), BuTB-0.5 (d), BuTB-2.0 (e), aPDT-0.1 (f), aPDT-0.5 (g), aPDT-2.0 (h), at 7 days. Abbreviations and symbols: arrows, immunolabelling cell; ab, alveolar bone; †, statistically significant difference in relation to SRP in the same time point; ‡, statistically significant difference in relation to aPDT-0.5 in the same time point; α , statistically significant difference in relation to 7 days in the same group; β , statistically significant difference in relation to 15 days in the same group. Original magnification: 1000x. Scale bars: 25 μ m. Counterstaining: Harris hematoxylin.

Immunolabeling pattern for OCN in the furcation region of the left mandibular first molar. (a) Median and interquartile deviation of the scores attributed to the immunolabeling pattern for OCN. (b-h) Photomicrographs showing immunolabeling pattern for OCN in SRP (b), BuTB-0.1 (c), BuTB-0.5 (d), BuTB-2.0 (e), aPDT-0.1 (f), aPDT-0.5 (g), aPDT-2.0 (h), at 30 days. Abbreviations and symbols: arrows, immunolabelling cell; ab, alveolar bone; †, statistically significant difference in relation to SRP in the same time point; ‡, statistically significant difference in relation to aPDT-0.5 in the same time point; α , statistically significant difference in relation to 7 days in the same group. Original magnification: 1000x. Scale bars: 25 μ m. Counterstaining: Harris hematoxylin.

Immunolabeling pattern for TRAP in the furcation region of the left mandibular first molar. (a) Mean and standard deviation of the number of TRAP-positive cells per mm² according to treatments and time point. (b-h) Photomicrographs showing immunolabeling pattern for TRAP in SRP (b), BuTB-0.1 (c), BuTB-0.5 (d), BuTB-2.0 (e), aPDT-0.1 (f), aPDT-0.5 (g), aPDT-2.0 (h), at 30 days. Abbreviations and symbols: arrows, immunolabelling cell; ab, alveolar bone; †, statistically significant difference in relation to SRP in the same time point; α, statistically significant difference in relation to 7 days in the same group. Original magnification: 1000x. Scale bars: 25 μm. Counterstaining: Harris hematoxylin.

LISTA DE TABELA

Table 1

62

Parameters, scores and distribution of specimens according to histopathological analysis in SRP, BuTB-0.1, aPDT-0.1, BuTB-0.5, aPDT-0.5, BuTB-2.0 and aPDT-2.0 groups at different study time points.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SRP - Scaling and root planing

aPDT - Antimicrobial photodynamic therapy

PS - Photosensitizer

$^1\text{O}^2$ - Singlet oxygen

BuTB - Butyl toluidine blue

TBO – Toluidine blue O

ROS – Reactive oxygen species

EP - Experimental periodontitis

TGF- β 1 - Transforming growth factor- β 1

OCN - Osteocalcin

TRAP - Tartrate-resistant acid phosphatase

CEUA - Ethics Committee in the Use of Animal

InGaAlP - Indio-Gallium-Aluminum-Phosphorus

DL – Diodo laser

nm - Nanometer

mW - Milliwatts

J/cm² - Joules per square centimetre

J - Joules

W/cm² - Watts per square centimetre

EDTA - Ethylenediamine tetraacetic acid

M - molar mass

H&E - Hematoxylin and eosin

MB – Methylene blue

μM - Micrometer

PBS - Phosphate-buffered saline

λ - Wavelength

RUNX2 - Runt-related transcription factor 2

LISTA DE ANEXOS

Anexo A	63
Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	
Anexo B	64
Normas para publicação segundo o Periódico “Journal of Clinical Periodontology”	
Anexo C	79
Lista de verificação de diretrizes para experimentação animal “ARRIVE Guidelines”	

SUMÁRIO

	PÁGINA
1. INTRODUÇÃO	33
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
3. RESULTADOS	41
4. DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÃO	47
6. REFERÊNCIAS	48
FIGURAS	56
TABELA	62
ANEXOS	63