



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

LEANDRO ARAÚJO FERNANDES

*"AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA DOS
EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO
TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL
INDUZIDA EM RATOS TRATADOS OU NÃO COM
CORTICÓIDE".*

Araçatuba/SP

2007



UNESP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

LEANDRO ARAÚJO FERNANDES

*“AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA DOS
EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA NO
TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL
INDUZIDA EM RATOS TRATADOS OU NÃO COM
CORTICÓIDE”.*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Araçatuba, para obtenção do título de “Mestre em Periodontia”

Orientador: Prof. Dr. Valdir Gouveia Garcia

Araçatuba/SP

2007

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

F363a	Fernandes, Leandro Araújo
	Avaliação histológica e histométrica dos efeitos da
	terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal
	induzida em ratos tratados ou não com corticóide: Leandro
Araújo	
	Fernandes – Araçatuba: [s.n.], 2007 161f. : il.
	Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
	Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2007
	Orientador: Profa. Dr. Valdir Gouveia Garcia
	1. Doença periodontal 2. Fotoquimioterapia 3. Imunossupressão
	4. Laser 5. Perda óssea alveolar 6. Terapia a laser de baixa
	intensidade.

Black D6
CDD 617.632

Dados Curriculares

Nascimento: 26.02.1980 - Guaxupé/MG.

Filiação: João Batista Fernandes

Maria Aparecida Fernandes

1999/2002: Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP

2004/2005: Curso de Pós-Graduação em Periodontia, nível de Especialização, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

2006/2007 Curso de Pós-Graduação em Periodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

Dedicatória

Dedico este trabalho:

A **Deus** que esteve sempre presente em todos os momentos de minha vida mostrando e guiando-me em todos os meus caminhos.

Aos meus queridos pais, **João Batista Fernandes e Maria Aparecida Fernandes**, exemplos de humildade e superação, pelo amor, carinho, dedicação, incentivo, constante apoio, aprendizado de vida e esforço realizado para a minha educação.

Às minhas irmãs **Daniela Araújo Fernandes e Aline Araújo Fernandes** pelo imenso amor, companheirismo, incentivo e carinho.

À minha querida namorada, **Daniela**, por estar sempre presente em minha vida e em especial neste trabalho, pelo seu amor, carinho, cumplicidade, paciência e apoio em todos os momentos.

Às minhas queridas avós, **Marta e Luzia** pela sua serenidade e seu exemplo de religiosidade que sempre fizeram-me caminhar no caminho do bem.

Aos meus **grandes e verdadeiros amigos** pela grande demonstração de amizade, durante os momentos mais difíceis na realização deste estudo.

Agradecimentos Especiais

*"Há homens que lutam um dia e são bons,
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis"*

(Bertolt Brecht)

Ao meu orientador **Dr Valdir Gouveia Garcia**, por me orientar e me ensinar que acima dos conhecimentos científicos é necessário ser humilde e honesto. Minha eterna gratidão pelo carinho e oportunidade de poder mostrar de que sou capaz de lutar pelos meus objetivos.

À Prof. Adj. **Alvaro Francisco Bosco**, pela confiança, disposição em sempre ajudar, estímulos renovadores, dedicação e oportunidades oferecidas, minha eterna gratidão.

À Professora **Doutora Maria José Hitomi Nagata**, grande formadora de profissionais, pesquisadores e professores. Docente e pesquisadora exemplar que, com suas constantes críticas construtivas, faz com que seus alunos aprendam a Periodontia de uma maneira diferente. Obrigado pelos ensinamentos, pelo carinho, apoio e amizade.

Aos meus queridos sogros **Hélio e Elza** pelo apoio constante e carinho.

Aos amigos **Juliano Milanezi de Almeida e Thiago Marchi Martins**, meu muito e sincero obrigado por todos os momentos que vivemos, pela amizade, pelo convívio, pelo respeito mútuo, pelo aprendizado recíproco e pelo apoio incondicional. Vocês foram imprescindíveis em todas as fases de execução deste e de outros trabalhos. Saibam que torço profundamente pelo sucesso pessoal e profissional de vocês e que podem contar sempre comigo, estejam onde estiverem.

A todos os meus amigos pois, parte da minha história deve-se a todos vocês.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, nas pessoas dos ex Diretores Prof. Dr. Paulo Roberto Botacin e Vice-Diretor Prof. Dr. Célio Percinoto, e atuais Diretor Pedro Felício Estrada Bernabé e Vice-Diretora Ana Maria Pires Soubhia por proporcionar a realização desta pesquisa e pelos anos de graduação, pós-graduação e crescimento profissional.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do Professor Wilson Roberto Poi, por sua dedicação ao Curso e gosto pela docência.

Ao Professor Doutor Tetuo Okamoto, pela ajuda inestimável na análise histológica do presente trabalho.

À Professora Doutora Letícia Helena Theodoro, pelo apoio precioso na revisão do presente trabalho, analisando-o e enriquecendo-o com suas válidas e pertinentes dicas e sugestões.

Aos professores da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP, pelos ensinamentos durante todo o decorrer do curso.

Leandro Araújo Fernandes

Ao funcionário do Departamento de Periodontia, **Claudioмиro**, sempre dispostos a nos ensinar e ajudar nas fases do processamento laboratorial.

Ao ex-funcionário do Biotério e atual funcionário do Departamento de Periodontia, **Odair**, pelas horas incansáveis de trabalho e pela constante disposição em nos ajudar nos passos experimentais do trabalho de Dissertação.
Meu profundo agradecimento!

Aos funcionários do Biotério, **Camilo e João**, que contribuíram, de forma ímpar, para realização da parte experimental. Mais uma vez, obrigado.

Aos demais pós-graduandos do Curso de Pós-Graduação em Odontologia - área Periodontia - **Luís Gustavo, Valmir, Juliano, Samara, Flávia, Sérgio, Alex, Danielle, Tatiana, Luciana, Michel, Thiago, Luis Augusto, Michele e Ana Cristina**, pela amizade, pelos ensinamentos e pelo convívio.

A todos os funcionários e estimados amigos da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Ana Claudia Grieger Manzatti, Cláudio Hideo Matsumoto, Cláudio Marciel Júnior, Fernando Fukunishi, Ivone Rosa de**

Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini e Maria Cláudia de Castro Benez, pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Diogo Reatto, Marina Midori Sakamoto Hawagoe e Valéria Queiroz Marcondes Zagatto**, pelo excelente trabalho, atenção dispensada, grande disposição em atender e ótimo relacionamento.

A todos os demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pela ajuda e atenção que me dispensaram desde a graduação.

A **Capes** pela concessão de Bolsa de Estudo.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram durante todo o decorrer do curso e que passaram em minha vida e colaboraram no desenvolvimento da pessoa que hoje sou.

Meu muito obrigado, hoje e sempre!

Leandro Araújo Fernandes

Epígrafe

Somente os fortes alcançam a vitória, porque os fracos logo se deixam vencer pelo desânimo ... Somente os fortes conquistam os altos cumes, porque sabem escalar a montanha passo a passo e lentamente vencer os percalços ... Toda subida exige esforços, perseverança e coragem. Aqueles que temem os desafios ou que já antecipam o fracasso são vencidos pelo descrédito em si mesmos e serão, na certa, derrotados ... Pois, antes de tudo, é a força interior que nos faz capazes de vencer!

(Autor desconhecido)

Prefácio

Pegadas na areia

*U*ma noite eu tive um sonho...

*S*onhei que estava andando na praia, com o Senhor, e através do Céu passavam cenas da minha vida. Para cada cena que se passava, percebi que eram deixadas dois pares de pegadas na areia: uma era o meu e o outro do Senhor.

*Q*uando a última cena da minha vida passou diante de nós, Olhei para trás, para as pegadas na areia e notei que muitas. Vezes no caminho da minha vida havia apenas um par de pegadas na areia.

*N*otei também, que isso aconteceu nos momentos mais difíceis e angustiosos do meu viver. Isso entristeceu-me deveras, e perguntei então ao Senhor ...

Senhor, tu me disseste que, uma vez eu resolvi Te seguir,
Tu andarias sempre comigo todo o caminho mas, notei que
Durante as maiores atribulações do meu viver havia na areia dos
caminhos da minha vida, apenas um par de pegadas. Não compreendo
por que nas horas que eu mais necessitava de Ti, tu me deixastes!

O Senhor me respondeu:

Meu precioso filho, Eu te amo e jamais te deixaria nas horas
Da tua prova e do teu sofrimento. Quando vistes na areia
apenas um par de pegadas, foi exatamente aí que Eu, nos braços te carreguei!

Fernandes LA. Avaliação histológica e histométrica dos efeitos da terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal induzida em ratos tratados ou não com corticóide. [Dissertação]. Araçatuba: UNESP – Universidade Estadual Paulista; 2007.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar histológica e histometricamente a influência da terapia fotodinâmica (PDT) no tratamento da doença periodontal induzida em ratos tratados ou não com corticóide. Cento e oitenta ratos foram divididos em 2 grupos de 90 animais. Os do Grupo A sofreram aplicações subcutâneas de soro fisiológico e os do Grupo B, aplicações subcutâneas de corticóide. A doença periodontal foi induzida por ligadura e após 7 dias foi removida e os animais divididos em subgrupos que receberam os tratamentos: I - raspagem e alisamento radicular (RAR) e irrigação com soro fisiológico; II - RAR e irrigação com azul de toluidina O (TBO); III - tratamento similar ao do grupo II e, após 1 minuto, aplicação do laser de ArGaAl (660 nm, 4J), realizando a terapia fotodinâmica (PDT). Dez animais de cada subgrupo foram sacrificados aos 7, 15 e 30 dias. Os espécimes foram processados laboratorialmente para análises histológica e histométrica. O tratamento com RAR (Grupos A e B) mostrou, aos 7, 15 e 30 dias, elevado número de neutrófilos e crista óssea com trabéculas finas e desorganizadas comparado ao TBO e PDT. No grupo A, a perda óssea (PO) foi significativamente maior ($p < 0,05$) no tratamento com RAR ($1,12 \pm 0,13$; $0,90 \pm 0,27$; $1,00 \pm 0,16$) que no TBO no período de 7 dias ($0,67 \pm 0,14$) e quando comparado ao PDT em todos os períodos experimentais ($0,54 \pm 0,06$; $0,56 \pm 0,13$; $0,53 \pm 0,05$). No grupo B, houve maior perda óssea no tratamento com RAR ($1,65 \pm 0,15$; $1,71 \pm 0,11$; $1,5 \pm 0,25$) em relação ao TBO ($0,74 \pm 0,12$; $1,06 \pm 0,10$; $0,75 \pm 0,31$) e PDT ($0,60 \pm 0,10$; $0,59 \pm 0,13$; $0,57 \pm 0,10$) em todos períodos avaliados. O tratamento com PDT

apresentou PO significativamente menor ($p<0,05$) que com TBO (15 dias) nos grupos A e B. Animais do grupo B, tratados com a PDT, demonstraram menor PO comparados aos animais do Grupo A, tratados pela RAR, aos 7 e 15 dias. Dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que a PDT foi efetiva como tratamento coadjuvante à RAR na redução da perda óssea em periodontite experimental induzida, em ratos normais e nos tratados com corticóide.

Palavras chaves: Doença Periodontal; Imunossupressão; Perda óssea alveolar; Terapia Fotodinâmica; Tratamento Periodontal.

Fernandes LA. Histologic and histometric evaluation of photodynamic therapy effects on treatment of induced periodontal disease in rats treated with corticoid or not. [Dissertation]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2007.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate histological and histometrically the influence of photodynamic therapy (PDT) in the treatment of periodontal disease induced in rats treated with corticosteroids or not. One hundred and eighty rats were divided into 2 groups of 90 animals. The Group's A suffered applications of subcutaneous saline in the Group B, subcutaneous application of corticosteroids. The periodontal disease was induced by ligation and after 7 days was removed and the animals divided into subgroups who received the treatments: I - scraping and hair root (RAR) and irrigation with saline; II - RAR, and irrigation with toluidine blue O (TBO); III - treatment similar to the group II and, after 1 minute, ArGaAl of application of laser (660 nm, 4J), performing photodynamic therapy (PDT). December animals of each subgroup were sacrificed at 7, 15 and 30 days. The laboratory specimens were processed for histological analysis and histométrica. Treatment with RAR (Groups A and B) showed, at 7, 15 and 30 days, large numbers of neutrophils and crest bone trabeculae with fine and desorganizadas compared to TBO and PDT. In group A, bone loss (PP) was significantly higher ($p < 0.05$) in treatment with RAR (1.12 ± 0.13 , 0.90 ± 0.27 , 1.00 ± 0.16), TBO in the period of 7 days (0.67 ± 0.14) and compared to PDT in all experimental periods (0.54 ± 0.06 , 0.56 ± 0.13 , 0.53 ± 0.05). In group B, there was greater bone loss in the treatment with RAR (1.65 ± 0.15 , 1.71 ± 0.11 , 1.5 ± 0.25) compared to TBO (0.74 ± 0.12 ; 1.06 ± 0.10 , 0.75 ± 0.31) and PDT (0.60 ± 0.10 , 0.59 ± 0.13 , 0.57 ± 0.10) in all periods evaluated.

Leandro Araújo Fernandes

Treatment with PDT presented PP significantly lower ($p < 0.05$) than with TBO (15 days) in groups A and B. Animals in group B, treated with PDT, showed lower PP compared to animals of the Group A, handled by RAR, at 7 and 15 days. Within the limits of this study, we can conclude that the PDT was effective as adjunctive treatment to the RAR in reducing bone loss in experimental periodontitis induced in normal mice and treated with corticosteroids.

Key words: Periodontal diseases; Immunosuppression; Alveolar bone loss; Photochemotherapy.

Lista de Tabelas

Manuscrito para publicação

Tabela 1	Média e Desvio padrão dos dados histométricos da perda óssea alveolar (mm ²) na região de furca dos primeiros molares inferiores direitos sem periodontite experimental induzida, de acordo com cada grupo e período.	63
Tabela 2	Médias e desvio padrão dos dados histométricos da perda óssea alveolar (mm ²) na região de furca dos primeiros molares inferiores esquerdos com periodontite experimental induzida, de acordo com cada sugrupo/tratamento e período.	63

Lista de Figuras

Manuscrito para publicação

Figura 1	Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento de RAR. Período de 15 dias. Coloração H.E.	55
Figura 2	Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento de RAR. Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Mason.	56
Figura 3	Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento de RAR. Período de 15 dias. Coloração H.E.	57
Figura 4	Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento de RAR. Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Mason.	58
Figura 5	Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento da PDT. Período de 15 dias. Coloração H.E.	59
Figura 6	Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento da PDT. Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Mason.	60
Figura 7	Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento da PDT. Período de 15 dias. Coloração H.E.	61
Figura 8	Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento da PDT. Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Mason.	62

Lista de Abreviaturas

ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico.

AMPc Adenosina monofosfato cíclica.

As-Ga - Arsênio-Gálio.

AsGaAl - Arseneto de Gálio e Alumínio.

ATP - Adenosina trifosfato.

CD16 - Anticorpo monoclonal para analisar a expressão de moléculas dos neutrófilos.

CD11b - Anticorpo monoclonal para analisar a expressão de moléculas dos neutrófilos.

Densidade energética - Quantidade de energia aplicada a uma área. Expressa em Joules por centímetro quadrado (J/cm²).

DNA - Ácido desoxiribonucleico

g - Gramas.

Gy - Gray, unidade de dose absorvida.

HCl-TTC- Hidrocloreto de tetraciclina.

H.E. - Expressa a técnica de coloração das lâminas. Hematoxilina e eosina.

Hertz (Frequência) - número de oscilações completas de uma onda por segundo. É expresso em Hertz ou pulsos por segundo.

He-Ne - Hélio-Neônio.

IL-1 - Interleucina 1.

IL-1a - Interleucina 1 alfa.

IL-2 - Interleucina 2.

IL-8 - Interleucina 8.

InGaAlP - Índio-Gálio-Alumínio-Fósforo.

Joule - Unidade de energia, abreviada como J.

J/cm² - Joules por centímetro quadrado.

Kg - Unidade fundamental de medida de massa.

Leandro Araújo Fernandes

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

Laser AsGa - Laser de Arseneto de Gálio.

Laser AsGaAl - Laser de Arseneto de Gálio e Alumínio.

Laser contínuo - Laser que emite energia continuamente.

Laser He-Ne - Laser de Hélio-Neônio.

Laser Nd:YAG - Laser de Neodímio, Ítrio, Alumínio, Granada.

Laser pulsado - Laser que emite energia em intervalos fixos.

LILT - Laser de baixa intensidade. Expressa Low Intensity Laser Therapy.

LLLT - Laser de baixa intensidade. Expressa Low Level Laser Therapy.

LmCL - Quimioluminescência luminol-dependente.

LPS - Lipopolissacarídeo

mg - Miligramas, equivalente à milésima parte do grama.

mg/Kg - Miligramas por quilo.

Milijoule - Joule dividido por 1000, a abreviatura é mJ.

mL - Mililitros, equivalente à milésima parte do litro.

Monocromático - Uma única frequência de comprimento de onda - uma única cor.

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura.

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

mm - Milímetro, equivalente a milésima parte do metro

mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro.

nm - Nanometro. Bilionésima parte do metro, utilizado para medir comprimento de onda. Sua abreviatura é 10^{-9} metros.

O₂ - Oxigênio.

PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas.

PDT - Terapia Fotodinâmica.

PO - Perda óssea.

ppm - Partes por milhão.

RAR - Raspagem e alisamento radicular.

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio.

TBO - RAR associado a irrigação com o Azul de Toluidina-Orto.

Tempo de exposição - Período total que o tecido é exposto à energia Laser.

TM - Expressa a técnica de coloração das lâminas. Tricrômico de Masson

Watt - Unidade de potência. Um Watt é igual a um Joule por segundo.

W - Abreviação de Watt; unidade de potência.

µg - Microgramas, equivalente à um milhão de vezes menor que o grama.

µg/ml - Microgramas por mililitros.

Lista de Anexos

Anexo A	Revisão de literatura	64
Anexo B	Tabela 3: Peso médio e desvio padrão dos ratos pertencentes aos grupos A e B (g) durante o estudo.	137
Anexo C	Imagens microscópicas demonstrando áreas de PO na região de furca dos primeiros molares inferiores esquerdos de todos os grupos/subgrupos e períodos estudados. Aumento de 3,2 X, coloração H.E.	138
Anexo D	Imagens microscópicas dos primeiros molares inferiores direitos, onde a doença periodontal não foi induzida. Nota-se ausência de PO e normalidade do espaço do ligamento periodontal. Aumento de 3,2 X, coloração H.E.	141
Anexo E	Comitê de Ética em Experimentação Animal	142
Anexo F	Normas de publicação da Revista Journal of Periodontology	143

Sumário

Manuscrito para publicação	26
Resumo	27
Introdução	29
Materiais e Métodos	31
Resultados	36
Discussão	39
Referências	46
Anexos	64



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



Título: Avaliação Histológica e Histométrica dos Efeitos da Terapia Fotodinâmica no Tratamento da Doença Periodontal Induzida em Ratos Tratados ou não com Corticóide[#].

Autores:

* Leandro Araújo Fernandes, DDS, MS.

* Valdir Gouveia Garcia, DDS, MS, PHD.

* Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, Brasil.

Autor responsável pela correspondência:

Valdir Gouveia Garcia

Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

Rua José Bonifácio, 1193.

CEP: 16015-050 Araçatuba, S.P., Brasil

Telefone: (53) 18 - 36363239

E-mail: vg.garcia@uol.com.br

Número de figuras: 6

Número de tabelas: 2

Palavras Chaves: Doença Periodontal; Imunossupressão; Terapia Fotodinâmica; Tratamento Periodontal.

[#] Normalização segundo a Revista *Journal of Periodontology*

Leandro Araújo Fernandes

Resumo

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar histológica e histometricamente a influência da terapia fotodinâmica (PDT) no tratamento da doença periodontal induzida em ratos tratados ou não com corticóide.

Métodos: Cento e oitenta ratos foram divididos em 2 grupos de 90 animais. Os do Grupo A sofreram aplicações subcutâneas de soro fisiológico e os do Grupo B, aplicações subcutâneas de corticóide. A doença periodontal foi induzida por ligadura e após 7 dias foi removida e os animais divididos em subgrupos que receberam os tratamentos: I - raspagem e alisamento radicular (RAR) e irrigação com soro fisiológico; II - RAR e irrigação com azul de toluidina O (TBO); III - tratamento similar ao do grupo II e, após 1 minuto, aplicação do laser de ArGaAl (660 nm, 4J), realizando a terapia fotodinâmica (PDT). Dez animais de cada subgrupo foram sacrificados aos 7, 15 e 30 dias. Os espécimes foram processados laboratorialmente para análises histológica e histométrica.

Resultados: O tratamento com RAR (Grupos A e B) mostrou, aos 7, 15 e 30 dias, elevado número de neutrófilos e crista óssea com trabéculas finas e desorganizadas comparado ao TBO e PDT. No grupo A, a perda óssea (PO) foi significativamente maior ($p < 0,05$) no tratamento com RAR ($1,12 \pm 0,13$; $0,90 \pm 0,27$; $1,00 \pm 0,16$) que no TBO no período de 7 dias ($0,67 \pm 0,14$) e quando comparado ao PDT em todos os períodos experimentais ($0,54 \pm 0,06$; $0,56 \pm 0,13$; $0,53 \pm 0,05$). No grupo B, houve maior perda óssea no tratamento com RAR ($1,65 \pm 0,15$; $1,71 \pm 0,11$; $1,5 \pm 0,25$) em relação ao TBO ($0,74 \pm 0,12$; $1,06 \pm 0,10$; $0,75 \pm 0,31$) e PDT ($0,60 \pm 0,10$; $0,59 \pm 0,13$; $0,57 \pm 0,10$) em todos períodos avaliados. O tratamento com PDT apresentou PO significativamente menor ($p < 0,05$).

que com TBO (15 dias) nos grupos A e B. Animais do grupo B, tratados com a PDT, demonstraram menor PO comparados aos animais do Grupo A, tratados pela RAR, aos 7 e 15 dias.

Conclusão: Dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que a PDT foi efetiva como tratamento coadjuvante à RAR na redução da perda óssea em periodontite experimental induzida, em ratos normais e nos tratados com corticóide.

Palavras chaves: Doença Periodontal; Imunossupressão; Perda óssea alveolar; Terapia Fotodinâmica; Tratamento Periodontal.

Introdução

A doença periodontal é o resultado da destruição dos tecidos de suporte do elemento dental pela ação local 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 hospedeiro¹. Além disso, fatores sistêmicos tais como diabetes, tabaco e estresse podem influenciar no desenvolvimento de doenças periodontais mais agressivas.²

O uso sistêmico de medicamentos como os antiinflamatórios não esteroidais e seus possíveis efeitos na doença periodontal têm sido estudados.³⁻⁶ Os resultados demonstraram que o uso de corticóide pode provocar desde ulceração gengival até perda de inserção, rompimento das fibras transeptais e perda óssea alveolar. Além disso, a utilização sistêmica de altas doses de glicocorticóides promove inibição da atividade fibroblástica, perda de colágeno e de tecido conjuntivo, com diminuição da re-epitelização e angiogênese⁷, diminuição do número de osteoblastos e aumento da função dos osteoclastos.⁸

O tratamento da doença periodontal baseia-se na eliminação da microbiota subgengival patogênica pela raspagem e alisamento radicular.^{9, 10} 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.^{11, 12}

Devido a estas limitações métodos coadjuvantes que promovam a eliminação de patógenos periodontais têm despertado o interesse de muitos pesquisadores que consideram o uso de

antibióticos ou anti-sépticos efetivos no tratamento periodontal.¹³ 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.¹⁴⁻¹⁸

Mais recentemente a terapia fotodinâmica (PDT) sido avaliada em muitos estudos¹⁷⁻²³, que tem evidenciado as vantagens da utilização desta terapia no controle microbiano. O tratamento consiste na associação de um fotossensibilizador à uma fonte de luz intensa com o objetivo de provocar morte celular. O mecanismo de ação da PDT se dá quando o fotossensibilizador absorve energia de uma fonte de luz com o mesmo comprimento de onda, ficando seus elétrons em um estado excitado. Na presença de um substrato, o fotossensibilizador, ao retornar ao seu estado fundamental, transfere a energia ao substrato, formando espécies de vida curta e altamente reativas como o oxigênio singleto, que pode provocar danos aos microorganismos por oxidação irreversível de componentes celulares.²⁴⁻²⁸

Devido aos efeitos antibacterianos da PDT, inclusive contra bactérias orais, essa passou a ser estudada no tratamento da doença periodontal.^{17, 29-31} Face à escassez de pesquisas que avaliaram a ação da PDT em condição de imunossupressão, é que foi proposto o presente estudo com o objetivo de avaliar, através de análise histológica e histométrica, os efeitos da terapia fotodinâmica no tratamento da doença periodontal induzida em ratos tratados ou não com corticóide.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados no presente estudo cento e oitenta ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Wistar*), 45 dias de idade, machos, pesando aproximadamente 200 a 250g, os quais foram distribuídos randomicamente em dois grupos (A e B), com noventa animais cada. Estes mostravam-se sadios, em condições de sofrerem o experimento e foram mantidos em gaiolas plásticas com no máximo 4 animais cada, sendo alimentados com ração e água *ad libitum*. Todos os protocolos descritos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP (Protocolo nº. 22/06).

Delineamento do estudo

Os animais do Grupo A (n=90) receberam injeções subcutâneas de soro fisiológico a cada três dias, mantendo-se até o final dos períodos de sacrifício. Os do grupo B (n=90) receberam injeções subcutâneas de 2mg/Kg de peso corpóreo do animal⁷ de fosfato dissódico de dexametasona (DECADRON® 2 mg - Prodome) * a cada três dias⁶, mantendo-se também até os períodos de sacrifício.

O local da administração foi o dorso dos animais, próximo à região cefálica e os horários de injeção foram sempre no período da manhã. Os animais foram pesados semanalmente para manutenção da dose, durante todo período experimental.

* Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., Campinas, São Paulo, Brasil

Indução da Doença Periodontal experimental

Após 24 horas das aplicações subcutâneas, a doença periodontal foi experimentalmente induzida. A anestesia geral foi obtida pela associação de 0,4 ml/Kg de Cloridrato de quetamina^r e 0,02 ml/Kg de cloridrato de xilazina^s por injeção via intramuscular. Com o auxílio de uma sonda e pinça modificada, foi adaptado um fio de algodão número 24^v ao redor dos primeiros molares inferiores esquerdos e mantidos em posição sub-gengival por meio de nós cirúrgicos, para a indução experimental da periodontite.³² Os primeiros molares inferiores contra-laterais de ambos os grupos/subgrupos, sem indução da doença periodontal experimental, foram utilizados como controles negativos.

Tratamentos

Decorridos 7 dias de evolução da doença periodontal induzida, em todos os molares inferiores esquerdos dos animais dos Grupos A e B, a ligadura foi removida. A seguir os animais foram divididos em subgrupos de acordo com os tratamentos: Tratamento I: animais tratados com raspagem e alisamento radicular (RAR) e irrigação com 1 ml de soro fisiológico; Tratamento II - animais tratados com RAR e posterior irrigação com 1ml de azul de toluidina O (TBO) na concentração de 100 µg/ml; Tratamento III - animais tratados com RAR, posterior irrigação com 1ml de azul de toluidina O (TBO) na concentração de 100 µg/ml e, após 1 minuto, irradiação com laser em baixa intensidade, realizando dessa forma a terapia fotodinâmica (PDT).

^r Vetaset – Fort Dodge Iowa – USA

^s Coopazine – Coopers São Paulo – Brasil

^v Corrente Algodão no 10; Coats Corrente, SP, Brasil.

O procedimento de raspagem e alisamento radicular foi realizado com Cureta de Gracey Mini - five 13 e 14[∞]. As soluções de soro fisiológico e TBO foram depositadas no interior da bolsa periodontal lentamente, utilizando seringa (1 ml) e agulha para insulina (13x4,5)[♦] sem bisel.

Terapia Fotodinâmica (PDT)

Para o tratamento da PDT foi realizada irrigação com 1 ml de Azul de Toluidina O (TBO) na concentração de 100µg/ml, com o auxílio de seringa para insulina, tomando-se o cuidado de dirigir a ponta da agulha no interior da bolsa periodontal. Decorrido 1 minuto após a permanência da droga no tecido, utilizou-se o tratamento com laser de baixa intensidade de Arseneto de Gálio e Alumínio (AsGaAl)[‡] com comprimento de onda de 660 nm e potência de 30 mW. A irradiação laser foi realizada no modo contínuo, em contato com a área e de forma pontual. A luz laser foi direcionada ao interior da bolsa periodontal em 3 pontos equidistantes na superfície vestibular e 3 pontos equidistantes na superfície lingual. Cada ponto foi irradiado por 133 segundos, recebendo uma dose pontual de 4 J, totalizando 13 minutos e 18 segundos de tempo de exposição e dose total de 24 J.

Períodos Experimentais

[∞] Hu-Friedy MFG. Corporation. Inc. Chicago, USA

[♦] Becton Dickinson Ind. Cirur. Ltda, Curitiba, PR, Brasil.

[‡] GaAlAs; Laser Bio Wave LLLT; Kondortech Equipamentos, São Carlos, SP, Brasil.

Os animais foram sacrificados por meio de superdosagem anestésica (tiopental 150 mg/Kg)⁸ aos 7, 15 e 30 dias pós tratamentos locais, sendo 10 ratos para cada subgrupo experimental. A mandíbula de cada animal foi removida, separada em duas partes, e fixada em formol tamponado a 10% por um período mínimo de 48 horas.

Análise Histológica

Os espécimes foram desmineralizados em uma solução de ácido fórmico e citrato de sódio por 30 dias. Após inclusão dos espécimes em parafina, cortes semi-seriados de 6 μ m foram obtidos no sentido mesio-distal e corados com hematoxilina e eosina (HE) e tricrômico de Masson (TM). Os cortes corados pela técnica de HE foram analisados por microscopia de luz com a descrição das características do tecido ósseo e do ligamento periodontal na região de furca dos primeiros molares inferiores esquerdos com doença periodontal experimental induzida. Para análise das fibras colágenas foi utilizada a coloração de tricrômico de Masson.

Análise Histométrica

A área (mm^2) de perda óssea (PO) na região de furca foi histometricamente determinada utilizando um sistema de análise de imagem⁹. Após exclusão da primeira e da última secção na qual a região de furca foi evidente, cinco secções equidistantes de cada dente foram selecionadas para análise histométrica.³³ Nos dentes sem doença periodontal induzida a área do ligamento periodontal foi medido em toda a extensão do cemento radicular, do ápice de uma das raízes até o ápice da raiz oposta, e a extensão da superfície óssea envolvida na extensão do cemento. Nos dentes onde foi induzida a doença periodontal experimental a

⁸ Cristalia, Produtos químicos Farmacêuticos LTDA, Itapira, S.P., Brasil

⁹ Imagelab 200 Software (Diracon Bio Informática-LTDA) Vargem Grande do Sul, S.P., Brasil

perda óssea (PO) foi avaliada medindo a extensão da área entre a crista óssea e a superfície do cimento do teto da furca. A seleção das secções histológicas e histométricas foram realizadas por um examinador treinado e cego ao tratamento realizado. Outro examinador cego ao tratamento e calibrado realizou a análise histométrica. A PO de cada espécime foi avaliada três vezes pelo mesmo examinador e em dias diferentes. As três medidas obtidas foram analisadas estatisticamente para análise de concordância com nível de 5% de significância (Teste Kappa). Os valores médios foram averiguados e comparados estatisticamente.

Análise estatística

A análise estatística dos dados histométricos obtidos foi realizada pelo programa BioEstat 3.0[#]. A hipótese de não haver diferença estatisticamente significativa na taxa de perda óssea na região de furca entre os diferentes grupos/subgrupos e períodos nos dentes com periodontite induzida foi testada. Após análise da normalidade dos dados pelo teste Shapiro-Wilk, a análise intra-grupo/subgrupos e inter-grupo/subgrupos foi realizada pela análise de variância a dois critérios ANOVA ($p < 0,05$). Quando o ANOVA indicou diferença estatística as comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey. Utilizando o mesmo procedimento a área do ligamento periodontal na região de furca nos dentes sem a doença

[#] Bioestat Windows 1995 Sonopress. Indústria Brasileira, Manaus, A.M, Brasil.

periodontal experimental induzida foi comparada estatisticamente entre os subgrupos pela análise de variância ANOVA ($p < 0,05$).

Resultados

Análise histológica

Nos espécimes do Grupo A, nos animais que receberam o tratamento I (RAR e irrigação com soro fisiológico) foi observado, em todos os períodos experimentais, tecido conjuntivo com elevado número de neutrófilos polimorfonucleares em degeneração e tecido ósseo com altura reduzida, áreas de reabsorção e com trabéculas ósseas pouco organizadas. (Figuras 1 e 2).

Nos do grupo B, nos animais que receberam o tratamento I, em todos os períodos experimentais, o tecido conjuntivo apresentou-se totalmente desorganizado, com discreto número de fibroblastos, com área extensa de reabsorção óssea, finas trabéculas ósseas e intenso infiltrado inflamatório (Figuras 3 e 4).

Nos espécimes dos Grupos A e B que receberam o tratamento II (TBO), apresentaram tecido conjuntivo bem desenvolvido com moderado número de fibroblastos e tecido ósseo com poucas áreas de reabsorção e bem desenvolvido.

Nos espécimes que receberam o tratamento III (PDT), tanto os do Grupo A quanto os do B, evidenciaram um ligamento periodontal íntegro, organizado com suas fibras colágenas paralelas. O cemento e a dentina apresentaram-se íntegros e o tecido ósseo mostrou-se ocupando área de furca em quase sua totalidade, com trabéculas espessas e bem

diferenciadas em toda a extensão da furca, em todos os períodos experimentais (Figuras 5 a 8).

Análise histométrica e análise estatística

A comparação dos resultados histométricos, da área do ligamento periodontal entre os animais do Grupo A ($0.55 \pm 0.05 \text{ mm}^2$; $0.51 \pm 0.05 \text{ mm}^2$; $0.55 \pm 0.04 \text{ mm}^2$) e Grupo B ($0.52 \pm 0.06 \text{ mm}^2$; $0.48 \pm 0.06 \text{ mm}^2$; $0.54 \pm 0.06 \text{ mm}^2$) na região sem a indução da doença periodontal experimental, não apresentou diferença estatisticamente significativa (Tabela 1).

Nos animais do Grupo A, na análise dos resultados entre os subgrupos, observa-se maior perda óssea no tratamento RAR ($1.12 \pm 0.13 \text{ mm}^2$; Os $0.90 \pm 0.27 \text{ mm}^2$; $1.00 \pm 0.16 \text{ mm}^2$), com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$), quando comparado com o tratamento TBO aos 7 dias ($0.67 \pm 0.14 \text{ mm}^2$; $0.95 \pm 0.21 \text{ mm}^2$; $0.74 \pm 0.26 \text{ mm}^2$) e com o tratamento PDT, em todos os períodos experimentais ($0.54 \pm 0.06 \text{ mm}^2$; $0.56 \pm 0.13 \text{ mm}^2$; $0.53 \pm 0.05 \text{ mm}^2$). Os animais tratados com a PDT apresentaram no período de 15 dias, menor PO ($0.56 \pm 0.13 \text{ mm}^2$), com diferença significativa ($p < 0.05$) quando comparado com o tratamento TBO ($0.95 \pm 0.21 \text{ mm}^2$) (Tabela 2).

Nos animais do Grupo B, na análise dos resultados entre os subgrupos, observa-se maior perda óssea no tratamento RAR ($1.65 \pm 0.15 \text{ mm}^2$; $1.71 \pm 0.11 \text{ mm}^2$; $1.50 \pm 0.25 \text{ mm}^2$), com diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$), quando comparado ao tratamento TBO ($0.74 \pm 0.12 \text{ mm}^2$; $1.06 \pm 0.10 \text{ mm}^2$; $0.75 \pm 0.31 \text{ mm}^2$) e PDT ($0.60 \pm 0.10 \text{ mm}^2$; $0.59 \pm 0.13 \text{ mm}^2$;

0,57±0,10 mm²), em todos os períodos experimentais. Os animais tratados com a PDT apresentaram no período de 15 dias, menor PO (0,59±0,13 mm²), com diferença significativa (p<0,05) quando comparado com o tratamento TBO (1,06±0,10 mm²) (Tabela 2).

Na análise dos resultados obtidos das medidas de PO na região de furca nos animais do Grupo B, houve maior perda óssea no tratamento RAR (1,65±0,15 mm²; 1,71±0,11 mm²; 1,50±0,25 mm²), quando comparado aos tratamentos TBO (0,74±0,12 mm²; 1,06±0,10 mm²; 0,75±0,31 mm²) e PDT (0,60±0,10 mm²; 0,59±0,13 mm²; 0,57±0,10 mm²) em todos os períodos experimentais. As comparações entre os dados dos animais do Grupo B tratados pela TBO (1,06±0,10 mm²), apresentaram diferença significativa, com menor PO nos animais tratados com a PDT (0,59±0,13 mm²), no período de 15 dias (Tabela 2).

Na análise comparativa entre os dados da PO na região de furca entre os animais do Grupo A tratados com RAR (1,12±0,13 mm²; 0,90±0,27 mm²) aos animais do Grupo B tratados com PDT, foi detectada menor perda óssea nos animais do Grupo B tratados com a PDT, nos períodos de 7 e 15 dias (0,60±0,10 mm²; 0,59±0,13 mm²).

Discussão

O presente estudo avaliou a influência da PDT como terapia coadjuvante ao tratamento periodontal convencional em ratos tratados ou não sistemicamente com corticóide, submetidos à indução da doença periodontal experimental.

A escolha do rato como modelo animal experimental baseou-se nos estudos de Klausen.³⁴ Segundo este autor, o rato é favorável como modelo experimental para o desenvolvimento e estudo da doença periodontal, pois o seu periodonto é semelhante ao do homem, tendo como divergência apenas a presença da queratinização do epitélio sulcular. O uso do fio de algodão adaptado ao redor do primeiro molar, como descrito por Johnson 1975,³² foi eficiente na indução da doença periodontal experimental. Esta ligadura favoreceu a formação de placa bacteriana e indução de uma resposta inflamatória. No presente estudo, a doença periodontal foi caracterizada pelos sinais clínicos de inflamação gengival, como edema, vermelhidão e perda da aderência do tecido gengival ao dente. Nos animais tratados sistemicamente com corticóide, os sinais clínicos de inflamação gengival foram exacerbados e ocorreu menor adesão do tecido gengival ao dente.

O corticóide de escolha do presente estudo foi o fosfato dissódico de dexametasona (2 mg) aplicado de forma subcutânea, com uma dose, a cada três dias⁶, de 2m/kg⁷ mantendo-a até o fim dos respectivos períodos experimentais. Os animais tratados com essa droga apresentavam-se, no momento do sacrifício, com letargia, hematomas e pêlos finos. Além disso, ocorreu uma diminuição de peso significativa no decorrer do estudo (dados não mostrados), sendo este fator ocasionado provavelmente pelo fato da droga prejudicar a

absorção de nutrientes pelo trato gastrintestinal.³⁵ Essas alterações já foram evidenciadas por outros autores, sendo indícios de imunossupressão e alterações sistêmicas.^{5,36}

Os resultados do presente estudo demonstraram ainda, que os animais do grupo B apresentaram ainda maior perda óssea na região de furca e tecido conjuntivo mais desorganizado, com discreto número de fibroblastos, quando comparados aos animais do grupo A. Essas alterações foram descritas em outros trabalhos que também avaliaram os efeitos dos corticóides nos tecidos periodontais.^{5,6}

O uso de altas doses de corticóide ocasiona diminuição do número e da atividade dos osteoblastos e aumento da função dos osteoclastos.⁸ Ocorre também uma redução da absorção gastrintestinal do cálcio e aumento da sua excreção urinária, diminuindo seus níveis sanguíneos, fato que desencadeará o estímulo do paratormônio, com conseqüente reabsorção óssea.³⁷

Os corticóides podem provocar atraso no processo de cicatrização^{7,38,39} pela diminuição da angiogênese e proliferação capilar que reduz o fluxo sanguíneo.^{37,40-43} Interferem também na fagocitose e digestão dos antígenos por inibir a migração de macrófagos e estabilizar lisossomos, impedindo a liberação de enzimas proteolíticas. Além disso, alteram as funções dos fibroblastos, retardando a sua migração, prejudicando a síntese de pro-colágeno tipo I e tipo II por alterar a síntese de RNAm e atividade mitótica.^{44,45}

Algumas pesquisas recentes^{7,46} demonstraram, em animais tratados sistemicamente com a mesma dose de corticóide usada neste estudo, diminuição do infiltrado inflamatório, maior diferenciação epitelial, processo de reparo mais diferenciado, com maior deposição de

colágeno em feridas cutâneas irradiadas com laser em baixa intensidade, porém com parâmetros distintos do presente estudo. Com relação ao uso da PDT sobre o reparo tecidual em animais tratados com corticóide, raros são os trabalhos descritos na literatura⁴⁶ e até o momento não existem estudos que avaliaram os efeitos do laser ou da PDT, sobre o reparo ósseo de tecidos que sofreram alterações por altas doses de corticóide.

O número de pesquisas relacionadas aos efeitos antimicrobianos da PDT tem aumentado. Essa terapia consiste na associação de um agente fotossensibilizador com uma fonte de luz, sendo inicialmente utilizada para tratamento oncológico.²⁸ Estudos têm mostrado resultados favoráveis utilizando os princípios da PDT contra microrganismos envolvidos com a doença periodontal^{17,19,29} e peri-implantar.^{23,47}

Na análise dos resultados da avaliação histométrica, os animais dos grupos A e B, que receberam o tratamento com a PDT, apresentaram significativa menor perda óssea quando comparado aos respectivos animais tratados somente com a RAR, em todos os períodos experimentais. O tratamento com a PDT mostrou-se efetivo também na redução da perda óssea, nos animais de ambos os grupos, quando comparada aos tratados com o TBO, no período de 15 dias.

Um grande número de estudos in vitro tem avaliado o efeito antimicrobiano da PDT com diferentes agentes fotossensibilizadores, como azul de metileno, azul de toluidina O, verde de malaquita, fitalocianina disulfonada, porfirinas, fenotiazinas, cianinas, acridinas, corantes fitoterápicos e as clorinas.¹⁴ Alguns estudos recentes têm avaliado a utilização da PDT no tratamento não-cirúrgico da doença periodontal in vivo, tanto em animais^{17,30} como em

humanos.^{29,31,48} Porém, o uso do azul de toluidina O como droga fotossensibilizadora na PDT, tem sido pouco avaliado in vivo no tratamento da periodontite⁴⁷ e no tratamento da Peri-implantite.^{23 49}

A PDT promove a sensibilização letal bacteriana de forma mais efetiva sobre bactérias Gram-positivas, enquanto as bactérias Gram-negativas são mais dificilmente sensibilizadas,⁴⁹ além de apresentarem baixa permeabilidade da membrana celular bacteriana aos compostos externos de antibióticos.⁵⁰ No presente estudo, foi utilizado o TBO devido ao fato de interagir de forma mais significativa com lipopolissacarídeos (LPS) presentes na membrana celular de bactérias gram-negativas, quando comparado ao azul de metileno.^{16,51}

O uso isolado do TBO (100 µg) nos ratos do grupo A também promoveu menor perda óssea na região de furca, quando comparado ao tratamento de RAR, aos 7 dias, e no grupo B em todos os períodos experimentais, diferindo dos resultados encontrados por Komerick (2003),¹⁷ quando utilizaram o TBO isoladamente com 0,01; 0,1 e 1 mg/ml que correspondem respectivamente a 10, 100 e 1000 µg/ml, e não encontraram diferenças significantes no nível de perda óssea, na análise morfométrica. Porém na análise microbiológica demonstraram redução de *Porphyromonas gingivallis* nas concentrações de 1 mg/ml (1000 µg/ml) após 4 e 8 minutos da droga fotossensibilizadora.

Estas diferenças de resultados, com diversas concentrações da droga, poderiam estar relacionadas com as diferenças na metodologia empregada nos estudos. No presente estudo, o tratamento com TBO foi realizado após a terapia mecânica convencional de RAR, não empregada no estudo de Komerick (2003).¹⁷ Existem relatos na literatura da atividade

bactericida do TBO na ausência de luz,¹⁶ e tal fato poderia ser explicado pela maior interação deste corante com LPS presentes na membrana celular das bactérias gram-negativas,⁵¹ além da desorganização do biofilme provocado pela RAR.

Com relação aos animais dos Grupos A e B, os resultados demonstraram que a PDT associada à RAR foi mais efetiva na redução da perda óssea na região de furca, quando comparado aos tratamentos RAR e soro fisiológico em todos os períodos experimentais e TBO aos 15 dias. O efeito benéfico da PDT coadjuvante ao tratamento convencional da doença periodontal, nos animais de ambos os grupos, provavelmente se deve aos efeitos foto-destrutivos sobre as diferentes espécies bacterianas, presentes nas áreas de doença periodontal induzida, mediados pela reação tipo I (iniciada por superóxidos, hidroxilas aniônicas ou radicais livres) ou pela reação tipo II (iniciada pelo oxigênio singleto).^{14,52}

A atividade fotodinâmica dos fotossensibilizantes está baseada nas reações foto-oxidativas que promovem alterações bioquímicas e morfológicas nas células alvo.⁵³ Quando a molécula da droga fotossensibilizadora absorve os fótons de uma fonte luz ressonante à banda de absorbância, ela passa do estado fundamental para o estado de excitação simples. Dependendo da estrutura de sua molécula e do ambiente, pode perder sua energia por processo eletrônico ou físico e retornar ao estado fundamental, ou pode passar a uma transição para o estado de excitação triplo (estado tripleto). Nesse estágio, as moléculas podem novamente sofrer um decaimento eletrônico e retornarem ao estado fundamental, podem sofrer reações redox com seu ambiente (Reação tipo I), ou sua energia de excitação podem ser transferida para a molécula de oxigênio, permitindo a formação de oxigênio

singleto (Reação tipo II). Estas espécies de oxigênio reativo são responsáveis por danos irreversíveis à membrana citoplasmática bacteriana, incluindo modificação protéica, na cadeia respiratória e nos ácidos nucleicos.¹⁴

Alguns fatores podem influenciar na PDT, como o coeficiente de absorção do corante, energia de fonte de luz, a concentração do fotossensibilizador e o tempo de duração do estado tripleto da molécula.^{14,54-56} Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com estudos na literatura que demonstraram a efetividade da PDT na evolução da doença periodontal em animais;^{17,30} no tratamento da periodontite em humanos^{31,48} e na peri-implantite.^{23, 47}

Ficou também evidenciado no presente estudo, que os animais do grupo B, que receberam o tratamento da PDT, nos períodos experimentais de 7 e 15 dias, apresentaram menor perda óssea comparado aos animais do grupo A que receberam apenas o tratamento de RAR. Os efeitos benéficos da PDT na doença periodontal poderiam ser explicados, não só pela atividade antimicrobiana local, descrita anteriormente, como também pelo aumento da angiogênese, o que proporciona maior oxigenação da área.⁵⁷

Outra possível explicação para os resultados deste estudo deve-se ao fato da fonte de luz utilizada ser o laser em baixa intensidade. Estudos têm relatado que a utilização desta fonte de luz inibe a produção de mediadores inflamatórios por células do ligamento periodontal,^{58, 59} favorece a quimiotaxia celular,⁶⁰ promove vasodilatação e angiogênese local e desta forma poderia haver um aumento na difusão de oxigênio no tecido,⁶¹⁻⁶³ favorecendo o processo de

reparo, pois, a secreção do colágeno pelos fibroblastos no espaço extracelular ocorre somente na presença de altas taxas de pressão de oxigênio.⁶⁴

O uso de corticóides sistêmicos tem sido indicado em baixas e altas doses para vários tratamentos como doenças mucocutâneas,⁶⁵ respiratórias, tendinites, bursites, artrites e cistos em geral⁶⁶. Um dos efeitos colaterais dessa droga é o aumento do risco a infecções devido aos efeitos inibitórios da imunidade celular,⁶⁷ podendo ocasionar maiores danos periodontais^{5,6} como demonstrado neste estudo.

Diante destes fatos, o uso de terapias periodontais alternativas ou coadjuvantes ao tratamento convencional de RAR, como o uso de antibióticos sistêmicos, poderia ser indicado, porém com a desvantagem de aumentar a resistência de cepas bacterianas.¹⁴⁻¹⁸ Desta forma o uso de agentes bactericidas locais seria a alternativa coadjuvante de escolha para o tratamento da periodontite.

Dentro dos limites deste estudo, pode-se concluir que a PDT foi efetiva como um tratamento coadjuvante a RAR, na redução da perda óssea em periodontite experimental induzida, tanto em animais normais como nos medicados sistemicamente com corticóide.

Referências Bibliográficas [#]

- 1-Kamma JJ, Slots, J. Herpes virus bacterial interaction in aggressive periodontitis. J Clin Periodontol 2003;30:420-426.
- 2-Breivik T, Gundersen Y, Osmundsen H, Fonnum F, Opstad PK. Neonatal dexamethasone and chronic tianeptine treatment inhibit ligature-induced periodontitis in adult rats. J Periodontal Res 2006;41:23-32.
- 3-Zipkin I, Bernick S, Menczel J. A morphological study of the effect of fluoride on the periodontium of the hydrocortisone-treated rat. Periodontics 1965;20:111-114.
- 4-Waterhouse JP. Effects of endocrine secretions of the periodontium and its constituent tissues. In: MELCHER, A.H.; BOLWEN, W.H.: Biology of the periodontium. New York: Academic Press, 1969:453-483.
- 5-Lipari WA, Blake LC, Zipkin I. Preferential response of the periodontal apparatus and the epiphyseal plate to hydrocortisone and fluoride in the rat. J Periodontol 1974;45:879-889.
- 6-Cavagni J, Soletti AC, Gaio EG, Rosing CK. The effect of dexamethasone in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. Pesqui Odontol Bras 2005;19:290-294.

[#] *Segundo Normas da Revista, Journal of Periodontology*

Leandro Araújo Fernandes

- 7-Pessoa ES, Melhado RM, Theodoro LH, Garcia VG. A histologic assessment of the influence of low-intensity laser therapy on wound healing in steroid-treated animals. *Photomed Laser Surg* 2004;22:199-204.
- 8-Sattler AM, Schoppet M, Schaefer JR, Hofbauer LC. Novel aspects on RANK ligand and osteoprotegerin in osteoporosis and vascular disease. *Calcif Tissue Int* 2004;74:103-106.
- 9-Listgarten MA. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. *J Periodontol* 1975; 46: 677-680.
- 10-Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol* 1993;64:243-53.
- 11-Matia JI, Bissada NF, Maybury JE, Ricchetti P. Efficiency of scaling of the molar furcation area with and without surgical access. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1986;38:24-35.
- 12-Adriaens PA, Edwards CA, DeBoever JA, Loesche WJ. Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. *J Periodontol* 1988;59:493-503.
- 13-Rams TE, Slots, J. Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. *Periodontol* 2000 1996;10:139-159.
- 14-Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:13-28.

- 15-Kleinfelder JW, Muller RF, Lange DE. Antibiotic susceptibility of putative periodontal pathogens in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1999;26:347-351.
- 16-Usacheva M, Teicher TMC, Biel MA. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms. *Lasers Surg Med* 2001;29:165-173.
- 17-Kömerik N. In vitro killing of *Porphyromonas gingivalis* by Toluidine blue mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2003;47:932 - 940.
- 18-Gad F, Zahra T, Hasan T, Hamblin MR. Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. *Antimicrobial Agents Chemother* 2004;48:2173-2178.
- 19-Yilmaz S, Kuru B, Kuru L, Noyan U, Argun d Kadir T. Effect of Galium Arsenide Diode Laser on human periodontal disease: a microbial and clinical study *Lasers Surg Med* 2002;60:60-66.
- 20-Nussbaum E, Lilge L, Mazzulli T. Effects of 630, 660, 810 and 905 nm laser irradiation delivering radiant exposure of 1-50 J/cm² on three species of bacteria in vitro. *J Clin Laser Med Surg* 2002;20:325-333.
- 21-Matevski D, Weersink R, Tenenbaum HC, Wilson B, Ellen RP, Lépine G. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. *J Periodont Res* 2003;38:428-435.

- 22-Chan Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci* 2003;18:51-55.
- 23-Shibli JA, Martins MC, Nociti FH Jr, Garcia VG, Marcantonio E Jr. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: A preliminary histologic study in dogs. *J Periodontol* 2003;74:338 -345.
- 24-Wilson M, Burns T, Pratten J, Pearson GJ. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. *J Appl Bacteriol* 1995;78:569-574.
- 25-Soukos NS, Wilson M, Burns T, Speight PM. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated in vitro. *Lasers Surg Med* 1996;18:253-259.
- 26-Bauer T W, Hahn SM, Spitz FR, Kachura A, Glatstein E, Fraker DL. Preliminary report of photodynamic therapy for intraperitoneal sarcomatosis. *Ann Surg Onc* 2001;8:254-259.
- 27-Dörtbudak O, Haas R, Bernhart T, Mailath-Pokorny G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:104-108.
- 28- Tomaselli F, Maier A, Sankin O, Anegg U, Stranzl U, Pinter H, Kapp K, Smolle-Juttner FM. Acute effects of combined photodynamic therapy and hyperbaric oxygenation in lung cancer - a clinical pilot study. *Lasers Surg Med* 2001;28:399 -403.

- 29-Sigusch BW, Pfitzner A, Albrecht V, Glockmann E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *J Periodontol* 2005;76:1100-1105.
- 30-Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 2007;78:566-575.
- 31-Oliveira RR, Schwartz-filho HO, Novaes AB, Taba M. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol* 2007;78:965-73.
- 32-Johnson JH. Effects of local irritation and dextran and sufhat administration on the periodontium of the rat. *J Periodontal Res* 1975; 10:332 - 345.
- 33-César-Neto JB, Benatti BB, Sallum EA, Casati MZ, Nociti FH Jr. The influence of cigarette smoke inhalation and its cessation on the tooth-supporting alveolar bone: a histometric study in rats. *J Periodontal Res* 2006;41:118-123.
- 34-Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol* 1991;62:59-73.
- 35-Metzger Z, Klein H, Klein A, Tagger M. Periapical lesion development in rats inhibited by dexamethasone. *J Endodont* 2002;28:643-645.
- 36-Labelle RE, Schaffer EM. The effects of cortisone and induced local factors on the periodontium of the albino rat. *J Periodontol* 1966;37:483-490.

- 37-Pierce AM, Lindskog S. Early responses by osteoclasts in vivo and dentinoclasts in vitro to corticosteroids. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1989;21:501-508.
- 38-Bondan EF, Lallo MA, Baz1EI, Sinhorini IL, Graça DL. Estudo ultra-estrutural do processo remielinizante pós-injeção de brometo de etídio no tronco encefálico de ratos imunossuprimidos com dexametasona. *Arq Neuropsiquiatr* 2004;62:131-138.
- 39-Tenius FP, Biondo-Simões MLP, Ioshii SO. Effects of chronic use of dexamethasone on cutaneous wound healing in rats. *An Bras Dermatol* 2007;82:141-149.
- 40-Ehrlich HP, Hunt TK. The effects of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wounds. *Ann Surg* 1968;167:324-328.
- 41-Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1975;78:71-100.
- 42-Fässler R, Sasaki T, Timpl R, Chu ML, Werner S. Differential regulation of fibulin, tenascin-C, and nidogen expression during wound healing normal and glucocorticoid-treated mice. *Exp Cell Res* 1996;222:111-116.
- 43-Durmus M, Karaaslan E, Ozturk E, Gulec M, Iraz M, Edali N, Ersoy MO. The effects of single-dose dexamethasone on wound healing in rats. *Anesth Analg* 2003;97:1377-1380.
- 44- Autio P, Oikarinen A, Melkko J, Risteli J, Risteli L. Systemic glucocorticoids decrease the synthesis of type I and type III collagen in human skin in vivo, whereas isotretinoin treatment has little effect. *Br J Dermatol* 1994;131:660-663.

- 45-Salmela K. Comparison of the effects of methylprednisolone and hydrocortisone on granulation tissue development: a experimental study in rat. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1981;15:87-91.
- 46-Nóbrega FJO. Estudo histológico da ação do laser e da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide. Araçatuba, 2005, 153f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
- 47-Shibli JA, Martins MC, Ribeiro FS, Garcia VG, Nociti FH, Marcantonio E. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:273-281.
- 48-Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. *Clin Dent* 2007;18:34-38.
- 49-Malik Z, Hanania J, Nitzan Z. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins - an alternative approach to antimicrobial drugs. *J Photochem Photobiol B* 1990; 5:281-93.
- 50-Nikaido H. Outer membrane barrier as a mechanism of anti-microbial resistance. *Antimicrob Agent Chemother* 1989;33:1831-1836.
- 51-Usacheva M, Teichert MC, Biel MA The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes. *Laser Surg Med* 2003; 33:311-319.
- 52-Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B* 1997;39: 1-18.

- 53-Prates RA, Yamada Jr AM, Suzuki LC et al. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *actinobacillus actinomycetemcomitans* J Photochem Photobiol B 2007;86: 70-76.
- 54-Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? Laser Med Sci 2007;22:83-91.
- 55-Hamblin MR, O'Donnell DA, Murthy N, Contag CH, Hasan T. Rapid control of wound infections by targeted photodynamic therapy monitored by in vivo bioluminescence imaging. Photochem Photobiol 2002; 75:51-57.
- 56-Olerud JE, Odland GF, Burgess EM, Wyss CR, Fisher LD, Matsen FA 3rd. A model for the study of wounds in normal elderly adults and patients with peripheral vascular disease or diabetes mellitus. J Surg Res 1995;59:349-360.
- 57-Benstead K, Moore JV. Quantitative histological changes in murine tail skin following photodynamic therapy. Br J Cancer 1989;59: 503-509.
- 58-Saito S, Ngan P, Rosol T, Saito M, Shimizu H, Shinjo N, Shanfeld J, Davidovitch Z. Involvement of PGE synthesis in the effect of intermittent pressure and interleukin-1 beta on bone resorption. J Dent Res 1991;70: 27-33.
- 59-Shimizu N, Yamaguchi M, Goseki T, Shibata Y, Takiguchi H, Iwasawa T, Abiko Y. Inhibition of prostaglandin E2 and interleukin 1-beta production by low-power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells. J Dent Res 1995;74:1382-1388.

- 60-Hourelid N, Abrahamse H. In vitro exposure of wounded diabetic fibroblast cells to a helium-neon laser at 5 and 16 J/cm². *Photomed Laser Surg* 2007;25:78-84.
- 61-Surinchak JS, Alago ML, Bellamy RF, Stuck BE, Belkin M. Effect of low-level energy laser on the healing of full-thickness skin defects. *Lasers Surg Med* 1983;2:267-274.
- 62-Basford JR. Low energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope, or hokum? *Mayo Clin Proc* 1986;61:671-675.
- 63-Al-Watban FAH, Zhang XY. Comparison of wound healing process using argon and krypton lasers. *J Clin Laser Med Surg* 1997;15:209-215.
- 64-Reenstra WR, Veves A, Orlow D et al. Decrease proliferation and cellular signaling in primary dermal fibroblasts derived from diabetics versus non diabetic sibling controls. *Acad Emerg Med* 2001;8:519.
- 65-Academy Report. Position paper: oral features of mucocutaneous disorders. *J Periodontol* 2003;74:1545-56.
- 66-Lech O, Severo AL, Silva LHP, Marcolan AM, Lütkemeyer E, Kim JH. Efeito do uso de corticóide em tendões previamente traumatizados: estudo experimental *Rev Bras Ortop* 1996;31:187-192.
- 67-Wannmacher L, Ferreira, MBC. *Farmacologia clínica para dentistas*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999, 346p.

Figuras

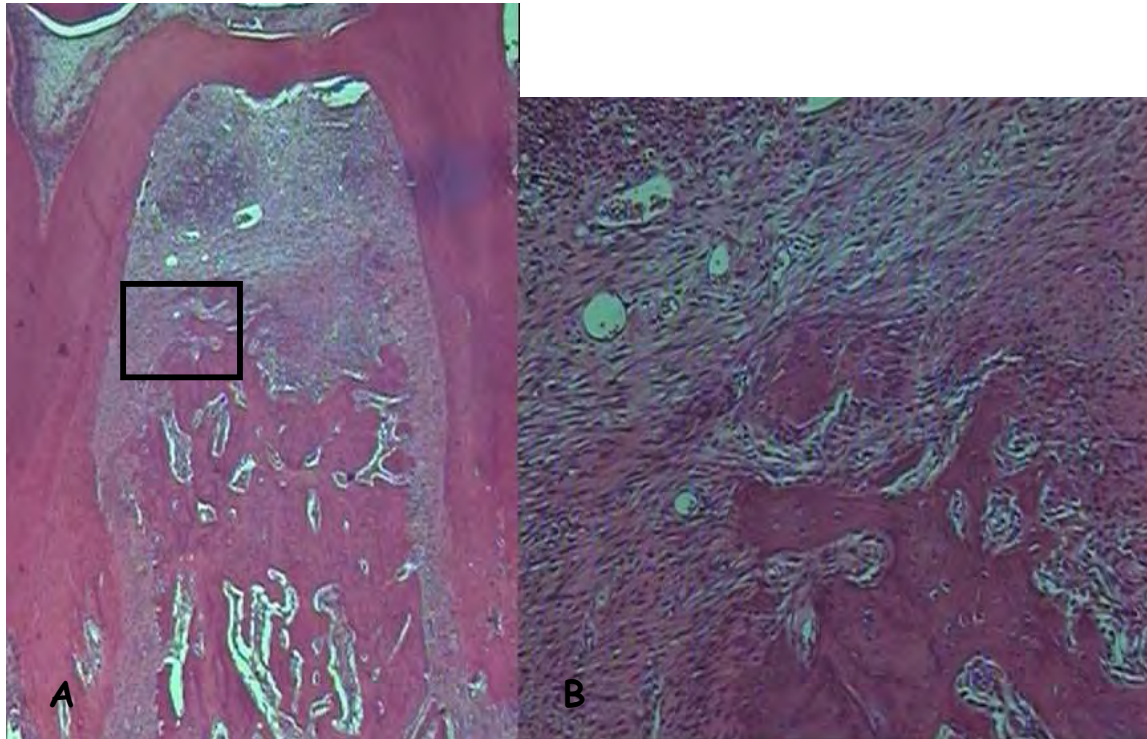


Figura 1: Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento I (RAR e soro fisiológico). Período de 15 dias. Coloração H.E. **Figura A:** Aumento de 3.2X; **Figura B:** Aumento de 12.5X.



Figura 2: Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento I, RAR e soro fisiológico. Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Masson. Aumento de 3.2X.

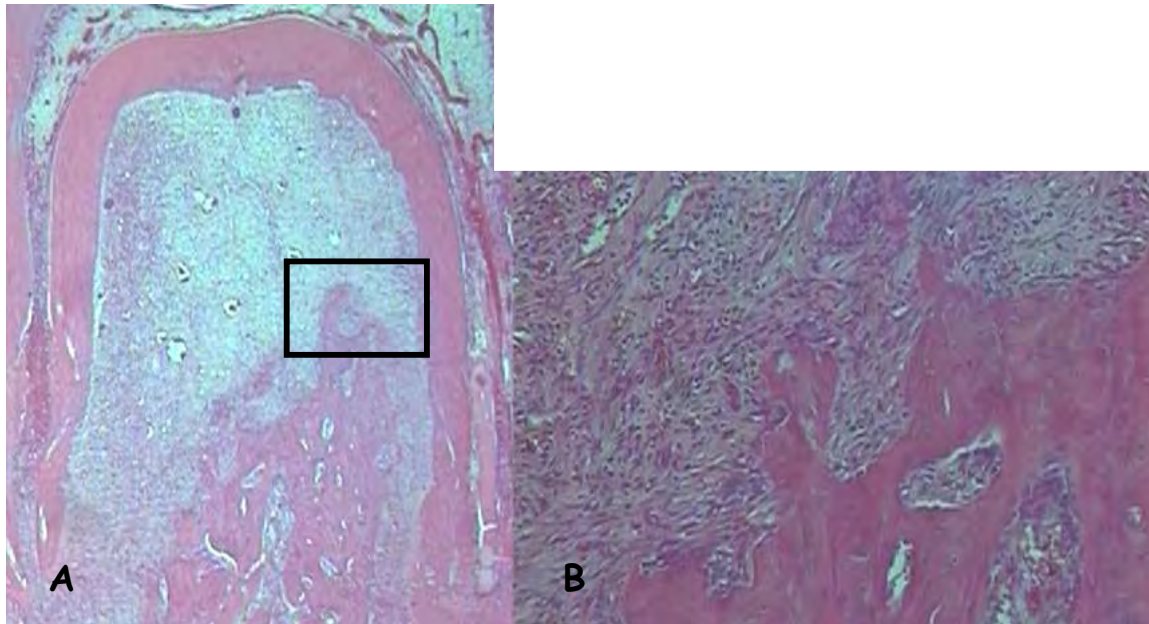


Figura 3: Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento I (RAR e soro fisiológico). Período de 15 dias. Coloração H.E. **Figura A:** Aumento de 3.2X.; **Figura B:** Aumento de 12.5X.



Figura 4: Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento I (RAR e soro fisiológico). Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Masson. Aumento de 3.2X.

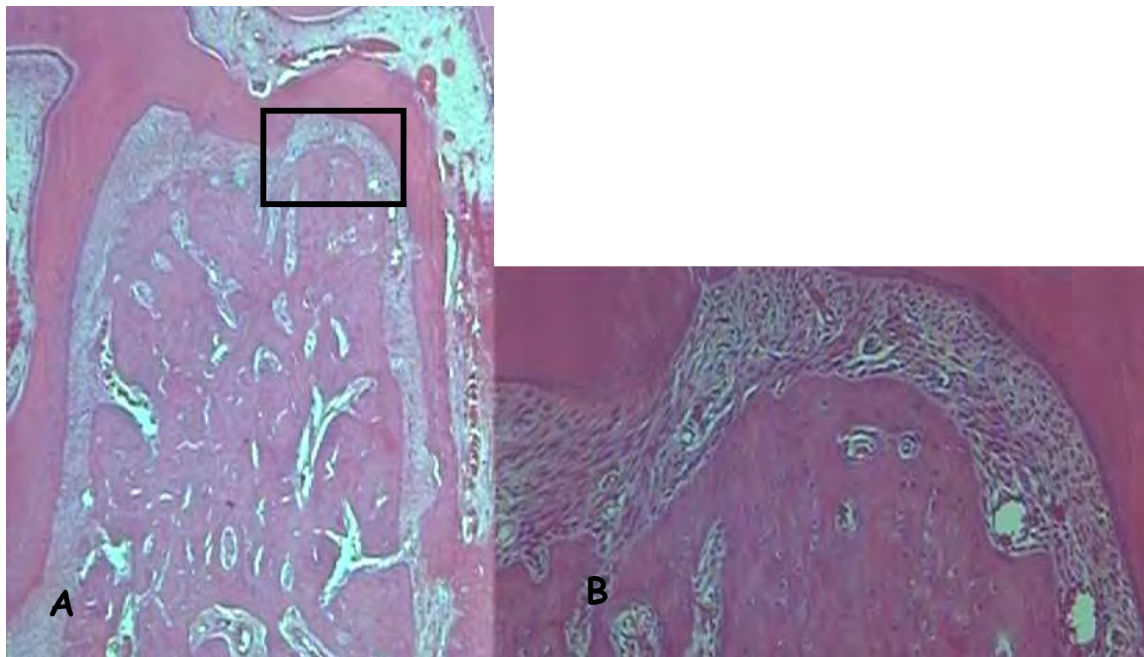


Figura 5: Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento III (PDT). Período de 15 dias. Coloração H.E. **Figura A:** Aumento de 3.2X; **Figura B:** Aumento de 12.5X.



Figura 6: Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento III (PDT). Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Masson. Aumento de 3.2X.

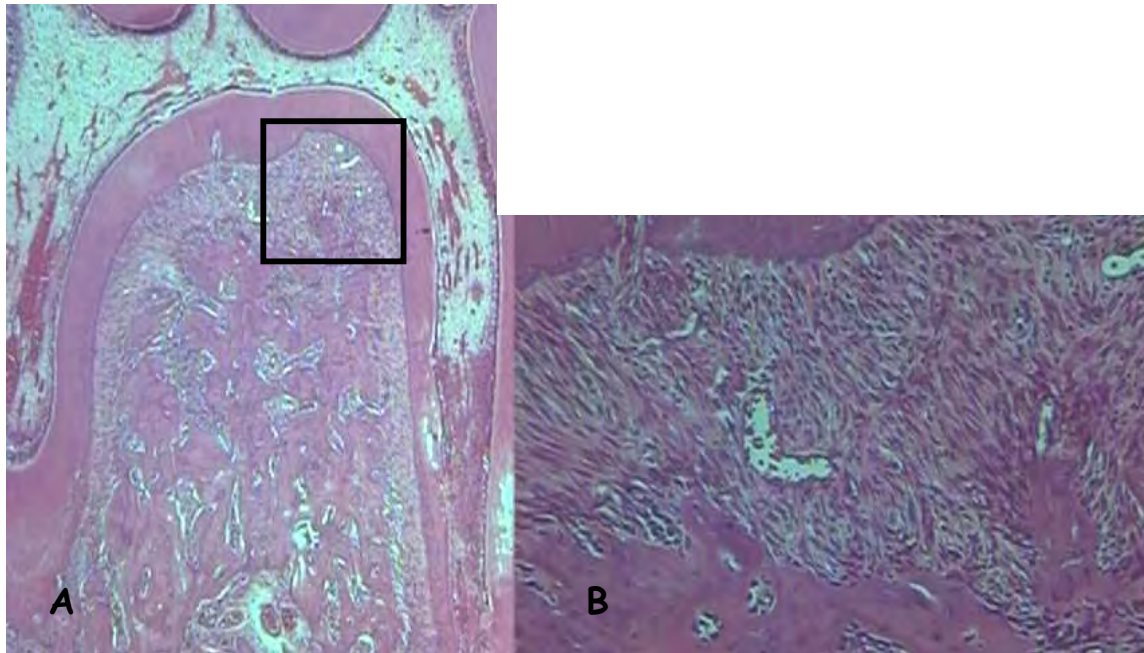


Figura 7: Imagens microscópicas da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento III (PDT). Período de 15 dias. Coloração H.E. **Figura A:** Aumento de 3.2X; **Figura B:** Aumento de 12.5X.



Figura 8: Imagem microscópica da área de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento III (PDT). Período de 15 dias. Coloração Tricrômio de Masson. Aumento de 3.2X.

Tabelas

Tabela 1: Média e Desvio padrão ($M \pm DP$) dos dados histométricos da área do ligamento periodontal (mm^2) na região de furca do primeiro molar inferior do lado direito, sem periodontite experimental induzida, de acordo com cada grupo (A e B) e período (7, 15 e 30 dias).

Grupos	Grupo A $M \pm DP$			Grupo B $M \pm DP$		
Períodos	7	15	30	7	15	30
Sem Doença	0.55 ± 0.05	0.51 ± 0.05	0.55 ± 0.04	0.52 ± 0.06	0.48 ± 0.06	0.54 ± 0.06

*Diferença estatisticamente significativa não detectada ($p=0.096$) pela análise de variância ANOVA (n.s 5%).

Tabela 2: Médias e desvio padrão ($M \pm DP$) dos dados histométricos da perda óssea alveolar (mm^2) na região de furca do primeiro molar inferior com periodontite experimental induzida, de acordo com cada grupo/subgrupo e período.

Grupos	Grupo A - $M \pm DP$			Grupo B - $M \pm DP$		
Períodos	7	15	30	7	15	30
Controle	$1.12 \pm 0.13^A a$	$0.90 \pm 0.27^A a$	$1.00 \pm 0.16^A a$	$1.65 \pm 0.15^A b$	1.71 ± 0.11^{Ab}	$1.50 \pm 0.25^A b$
TBO	$0.67 \pm 0.14^B a$	0.95 ± 0.21^{Aa}	$0.74 \pm 0.26^{A, B a}$	$0.74 \pm 0.12^B a$	$1.06 \pm 0.10^B a$	$0.75 \pm 0.31^B a$
PDT	$0.54 \pm 0.06^B a$	$0.56 \pm 0.13^B a$	$0.53 \pm 0.05^B a$	$0.60 \pm 0.10^B a$	$0.59 \pm 0.13^C a$	$0.57 \pm 0.10^B a$

A, B, C Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, nas colunas, não diferem entre si pela análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste Tukey ($p < 0.05$).

a, b, c Médias seguidas por letras minúsculas iguais, nas linhas, não diferem entre si pela análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste Tukey ($p < 0.05$).

Anexo A

Revisão de Literatura [@]

DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL EM RATOS

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).

Os ratos apresentam muita semelhança ao homem em relação à anatomia periodontal, desenvolvimento e composição do biofilme bacteriano, histopatologia das lesões periodontais e imunologia básica. A utilização do rato (*Rattus norvegicus*) em doença periodontal experimental apresenta certas vantagens em relação a outros modelos animais, pois além do custo reduzido para sua obtenção são de fácil manuseio, podendo ser criados em condições germ-free, bem como podem ser utilizadas linhagens procriadas em condições de imunodeficiência (KLAUSEN, 1991).

Os ratos possuem um incisivo e três molares por hemiarcada. No entanto os incisivos apresentam crescimento contínuo, sendo os molares os de escolha para utilização em periodontite experimental por apresentarem estrutura e organização dos tecidos periodontais semelhantes aos humanos. A única diferença é o epitélio sulcular gengival que apresenta-se queratinizado nestes animais (PAGE & SCHROEDER, 1982). Entretanto, estudos têm demonstrado que os metabólitos do biofilme dento-bacteriano colocados no sulco gengival, penetram no tecido conjuntivo via epitélio juncional, descartando a importância da queratinização do epitélio sulcular nestes animais (TAKATA et al., 1988).

[@] Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT. NBR 6023 informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

Os ratos apresentam a característica de erupção passiva dos dentes para compensar a atrição das superfícies oclusais com aumento da idade dos animais, além de haver uma migração distal desses dentes, e com isso uma contínua remodelação óssea alveolar. No entanto a distância entre a junção cimento-esmalte e a crista óssea alveolar permanece constante em ratos livres de doença periodontal (KLAUSEN, 1991).

Patógenos periodontais humanos como o *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, podem exercer patogenicidade em experimentos animais. Outros microorganismos também apresentam potencial periodontopatogênico como o *Streptococcus sobrinus* e *Actinomyces viscosus* (KAMMA et al., 2003).

A metodologia de indução de periodontite largamente utilizada em animais consiste na colocação de ligaduras de fio de algodão ou seda ao redor da região cervical dos dentes, a nível da margem gengival e dentro do sulco gengival, permitindo o acúmulo de biofilme bacteriano, provocando consequentemente a inflamação gengival (JOHNSON, 1975; SALLAY et al., 1982). Os aspectos clínicos e histológicos da periodontite experimental em ratos também são semelhantes aos humanos, onde se observa achatamento e deslocamento da margem gengival, aumento da proliferação do epitélio para o tecido conjuntivo subjacente, infiltrado inflamatório celular, principalmente de mononucleares, migração apical do epitélio juncional e reabsorção da crista óssea alveolar e região interradicular, com reabsorção de cimento e dentina (ADRIAENS et al., 1988; KLAUSEN, 1991).

Estudos avaliando o tempo de indução da doença têm variado conforme alguns pesquisadores. Johnson (1975), observou reabsorção da crista óssea alveolar, por meio de análise radiográfica, 17 dias após a colocação de ligaduras nos primeiros molares inferiores. Já Sallay et al. (1982), demonstraram que com 9 dias já se observava inflamação aguda, seqüestro ósseo e destruição da crista óssea. Em 2000, Bezerra et al. observaram que a perda óssea alveolar em modelo de periodontite experimental em ratos mostrava-se evidente

após o 4º dia de indução da doença, alcançando pico máximo ao 7º dia, persistindo inalterado até o 11º dia .

Assim, estudos em ratos têm contribuído enormemente em várias áreas da periodontia, incluindo estrutura tecidual, regeneração, reações a drogas, bem como podem ser utilizados em estudos de patogenicidade, estudos imunológicos e de imunização (WOLFSON et al., 1975; PAGE & SCHROEDER, 1982; MATTIA et al., 1986; KLAUSEN, 1991).

ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

Os corticosteróides são hormônios secretados pelo córtex adrenal e são divididos em: mineralocorticóides, adrenocorticosteróides e glicocorticóides. A função dos mineralocorticóides está relacionada com o controle da água e do metabolismo eletrolítico. Eles são essenciais para a ativação da reabsorção de sódio pelos túbulos distais dos rins, com reabsorção de cloreto e com a inibição da reabsorção de potássio. Já os adrenocorticosteróides, são hormônios sexuais primariamente masculinizantes. O terceiro grupo, os glicocorticóides, afeta o metabolismo dos carboidratos e reduz a resposta inflamatória (GOODMAN & GILMAN, 2003). A sua síntese e liberação ocorre naturalmente pelo organismo, de acordo com sua necessidade, sob influência do ACTH - hormônio adrenocorticotrófico (SAAD & SWENSON, 1965; HERFINDAL et al., 1988; CAWSON; SPECTOR, 1989).

Os glicocorticóides sintéticos, desenvolvidos pela indústria farmacêutica, são muito semelhantes aos naturais, se considerada a sua estrutura química. A diferença básica deve-se ao fato de que todos os glicocorticóides sintéticos apresentam duas ligações duplas no anel "A" do ciclopentanoperhidrofenantreno, núcleo básico dos hormônios glicocorticóides.

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) apresentam propriedades analgésica, anti-pirética e antiinflamatória (SEYMOUR & HEASMAN, 1988). Tais agentes interferem na via cicloxigenase, promovendo uma regulação da síntese dos componentes do metabolismo do ácido araquidônico (prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos), suprimindo a sua

formação (KUEHL & EGAN, 1980; LUKERT e RAISZ, 1990; LECH et al., 1996; AAP, 2003; BAVARESCO et al., 2005).

No sentido de explicar a redução do fenômeno inflamatório, Corbett (1982) afirma que os glicocorticóides provocam redução da circulação dos capilares, inibição da formação dos mastócitos, redução da biogênese dos leucócitos e plasmócitos, linfocitose e diminuição da aderência de leucócitos nas paredes endoteliais, com conseqüente alteração na sua fase migratória e no seu acúmulo nos tecidos (ROSTEMBERG, 1961; GOODMAN & GILMAN, 2003).

Células inflamatórias, tais como polimorfonucleares e macrófagos, contém enzimas colagenolíticas em seu citoplasma, e ao serem impedidas de migrarem para os tecidos pela ação antiinflamatória dos corticóides ocorre uma alteração da degradação e síntese do colágeno o que modifica o desenvolvimento do processo de reparo (WAHL et al., 1985). Nesse sentido, Rossi Júnior (1984) estudou a ação dos corticosteróides sobre o processo inflamatório em camundongos. O autor verificou que houve uma diminuição na quantidade de macrófagos no foco de inflamação e conseqüentemente atraso no processo cicatricial.

Medicamentos contendo glicocorticóides são utilizados na terapêutica, com variadas finalidades. Isso inclui principalmente terapia de reposição hormonal (em caso de problemas no córtex supra-renal), terapia antialérgica, antiinflamatória, tratamentos anticâncer e terapias de imunossupressão (GOODMAN & GILMAN, 2003).

Os fármacos glicocorticóides, de uma maneira geral, apresentam vários efeitos adversos, uma vez que eles interferem no metabolismo geral do organismo. Estes compostos são capazes de reduzir a captação e utilização da glicose e aumentar a gliconeogênese, desencadeando glicemia de rebote, com conseqüente glicosúria, além de aumentar o catabolismo e reduzir o anabolismo protéico. Outro efeito adverso da terapia com glicocorticóides é a redução da absorção de cálcio pelo trato gastrintestinal e o aumento da excreção deste cátion pelos rins, podendo resultar, assim, em osteoporose (LABELLE e SCHAFFER, 1966; METZGER et al., 2002; RANG et al., 2003; SATTLER et al., 2004).

Estes fármacos, também, alteram o metabolismo e a redistribuição das gorduras, característica da síndrome de Cushing. A administração de glicocorticóides em concentrações acima das fisiológicas pode exacerbar efeitos mineralocorticóides, causando retenção de sódio e excreção de potássio, possivelmente, por terem a capacidade de se ligarem a receptores mineralocorticóides, quando presentes em altas concentrações (RANG et al., 2003).

A dexametasona é um glicocorticóide sintético que apresenta atividade farmacológica de dez a vinte vezes maior que o cortisol e a corticosterona. Este fármaco é um potente antiinflamatório e imunossupressor que atua inibindo a transcrição de genes que após a tradução originam receptores, proteínas que suprimem citocinas e, também, proteínas que controlam a ativação, migração, adesão e recrutamento celular. Como consequência, ocorre inibição periférica da proliferação de linfócitos T, acompanhada por inibição da migração celular para sítios inflamatórios e controle da recirculação de leucócitos. Adicionalmente, ela induz apoptose em timócitos, induzindo atrofia do timo (SORIANELLO et al., 2002).

Lallo et al. (2002) com o objetivo de desenvolver animais farmacologicamente imunossuprimidos como modelo da infecção natural pelo *E. cuniculi* utilizou grupos distintos de camundongos Balb-C adultos, aplicando diferentes doses de dexametasona e inoculando esporos de *E. cuniculi* por via intraperitoneal. Também foram usados grupos controle (animais inoculados, mas não imunossuprimidos, e animais imunossuprimidos, mas não inoculados). Os animais foram sacrificados e submetidos à necropsia aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias pós-inoculação. Fragmentos teciduais foram coletados e processados para análise por microscopia de luz, utilizando-se as técnicas de coloração de gram e hematoxilina-eosina. A inoculação experimental resultou em uma infecção disseminada e não-letal nos animais imunossuprimidos e infectados, caracterizada por lesões granulomatosas em diversos órgãos (fígado, pulmões, rins, intestino, encéfalo), porém mais notadamente no tecido hepático. Os autores concluíram que a aplicação de dexametasona fornece um modelo aceitável de animais imunodeficientes.

Ainda com relação ao efeito imunossupressor da dexametasona, Bodan et al. (2004) sabendo que os linfócitos estão presentes nas lesões desmielinizantes induzidas pelo

brometo de etídio no sistema nervoso central (SNC) e da possibilidade de sua participação em eventuais respostas imunomediadas às bainhas de mielina, estudou as conseqüências da imunossupressão com dexametasona no reparo do SNC após injeção local de brometo. Ratos Wistar adultos receberam 10 microlitros de solução de brometo de etídio a 0,1% na cisterna pontis. Alguns destes foram tratados intraperitonealmente com dexametasona (3 mg/kg/dia, grupo I, n=15) durante o período experimental; outros não foram imunossuprimidos (grupo II, n=15). Animais de ambos os grupos foram perfundidos com solução fixadora de glutaraldeído a 4% aos 7, 11, 15, 21 e 31 dias pós-injeção da droga. Fragmentos do tronco encefálico foram colhidos e processados para estudos de microscopia eletrônica de transmissão. Os ratos do grupo I apresentaram maiores quantidades de membranas derivadas de mielina e rara presença de linfócitos que os não-imunossuprimidos (grupo II), sugerindo um atraso na atividade macrofágica de retirada dos restos mielínicos. A atividade remielinizante oligodendroglial também mostrou um padrão retardado, com claro predomínio de axônios desmielinizados.

Os efeitos da corticoterapia sobre a cicatrização de feridas cirúrgicas têm sido objetos de estudo de muitos pesquisadores. Os corticosteróides no processo cicatricial afetam a síntese e maturação do colágeno, a força de tensão das feridas, inibem a função do fibroblasto e deprimem a ação antibacteriana e fagocitária de algumas células de defesa, resultando no retardo e alteração do padrão da cicatrização de feridas (EHRlich e HUNT, 1968; HARRIS, 1970; LEIBOVICH e ROSS, 1975; SALMELA, 1981; AUTIO et al., 1994; FÄSSLER et al., 1996, KLOTH et al., 1998; WANNMACHER e FERREIRA, 1999; GREENSPAN e STREWLER, 2000; DURMUS et al., 2003; TENIUS et al., 2007).

Ragan et al. (1949) reportaram que largas doses de cortisona, quando aplicadas em coelhos, retardaram o índice de reparo de feridas tão quanto à quantidade de formação de tecido de granulação.

Trabalhos que se encontram na literatura afirmam que a cicatrização de anastomoses intestinais é mais lenta e com mais riscos na vigência do uso de corticóides (ROSENBERG et al. 1976; ASZODI et al., 1984). Assim, o uso de corticóides tem sido associado a um retardo

de cicatrização de anastomoses, tanto em trabalhos clínicos (IRVIN et al. 1973) quanto experimentais (MARTINS JR et al., 1992; ARANTES et al., 1994). Dessa maneira, os cirurgiões, normalmente, temem as realizações de suturas intestinais em pacientes que estão em uso de corticóides devido a um maior risco de fístulas e deiscências (IRVIN et al., 1973; ARANTES et al., 1994).

Diversos corticóides testados na literatura mostraram resultados semelhantes quanto à piora da cicatrização. A betametasona foi utilizada por Rosenberg et al. (1976), mostrando um retardo do processo de fibroplasia da anastomose. Aszodi e Ponsky (1984) demonstraram a alta incidência de deiscência de feridas operatórias, fístulas anastomóticas e de septicemia intra-abdominal com a utilização de acetato de hidrocortisona. Da mesma maneira, parece ocorrer retardo cicatricial e menor resistência tênsil das anastomoses em ratos tratados com metilprednisolona e a dexametasona apresentou um retardo no processo cicatricial anastomótico em um outro trabalho (MARTINS JR et al., 1992).

De Aguiar - Nascimento et al. (2000), com o objetivo de investigar os efeitos do deflazacort na cicatrização de anastomoses colônicas utilizaram 75 ratos Wistar dividindo-os randomicamente em três grupos: controle (N=24) = solução fisiológica; deflazacort (N = 25) = 0,1 mg/Kg/dia e dexametasona (N = 26) = 0,5 mg/Kg/dia substância. Após seis dias de tratamento, os animais foram submetidos à secção colônica, seguida de anastomose primária em um ponto situado a 2 (dois) cm acima da reflexão peritoneal. O tratamento com as soluções foi mantido até o sacrifício, que ocorreu no 3º ou 6º dia de pós - operatório. Não houve diferença em relação à ocorrência de deiscência e peritonite entre os tratamentos. Os autores concluíram que o uso de corticóides determina queda na resistência da anastomose colônica.

Os antiinflamatórios não esteroidais nos tecidos periodontais podem causar migração apical do epitélio juncional, ulceração gengival, rompimento das fibras transeptais e perda óssea alveolar (WATERHOUSE, 1969; ZIPKIN et al., 1965).

Baseados nessa assertiva, Lipari et al. (1974) realizaram um estudo com o intuito de avaliar a resposta do periodonto e da cartilagem epifisária à administração de hidrocortisona

e fluoreto, em ratos. O estudo foi dividido em duas fases: Fase I: os ratos, pesando entre 125-150 g foram divididos em dois grupos: Grupo A, onde 12 animais receberam aplicações intramusculares diárias de solução salina; e Grupo B, 18 animais receberam injeções intramusculares diárias de 2,5 mg de acetato de hidrocortisona; e Fase II: 48 animais, pesando entre 40 - 50 g, foram divididos em 2 grupos: Grupo I, que recebeu água ad libitum, e grupo II, que recebeu 75 ppm de fluoreto na água ad libitum por um período de 30 dias. Terminado esse período, a administração de fluoreto do grupo II foi interrompida e quatro animais de cada grupo foram sacrificados. Os animais restantes foram subdivididos em grupos I a, I b, II a e II b. Grupo I a consistiu de 8 animais que receberam água ad libitum e injeções diárias de 0,1 ml de solução salina. Grupo I b foi composto por 10 ratos que receberam água ad libitum e injeção intramuscular diária de 0,1 ml de suspensão contendo 2,5 mg de acetato de hidrocortisona. O regime experimental desses grupos foi repetido nos grupos II a e II b, respectivamente. Após 60 dias, os animais foram sacrificados para análise histológica. Os resultados das fases I e II mostraram que os animais que receberam hidrocortisona apresentaram diminuição de peso e estavam letárgicos. Em todos os grupos, não foi observada nenhuma patologia nos 10º e 20º dias de sacrifício, contudo, aos 30 dias, 50% dos animais recebendo hidrocortisona apresentaram reabsorção óssea, ulceração no periodonto e rompimento das fibras transeptais. Desorientação e estreitamento da cartilagem epifisária foram notados nos mesmos animais. A ingestão prévia de fluoreto mostrou prevenir eficazmente o aparecimento de patologia não-inflamatória do periodonto dos animais, entretanto mostrou ter pouco ou nenhum efeito na sintomatologia patológica vista na cartilagem epifisária.

Os glicocorticóides podem provocar alterações no metabolismo ósseo. A manutenção da corticoterapia em altas doses ou por longos períodos pode associar-se a efeitos colaterais como por exemplo a osteoporose (PIERCE e LINDSKOG, 1989; HUANG & ZENG, 1999).

Concentrações excessivas de glicocorticóides in vivo diminuem a formação óssea e podem causar necrose óssea. A redução da formação óssea está associada com redução da densidade óssea e ao decréscimo dos níveis séricos de osteocalcina, um marcador da função

osteoblástica. Ossos acometidos por osteoporose também mostram uma redução no número de osteoblastos (CANALIS & DELANY, 2002). Como os osteoblastos exibem receptores para glicocorticóides é possível que tais hormônios desempenhem efeitos diretos sobre as células da linhagem osteoblástica. Por outro lado, admite-se atualmente que os esteróides também possam interferir na função osteoclástica indiretamente, por meio da indução da produção de fatores solúveis e de membrana por osteoblastos e outras células estromais (HUANG & ZENG, 1999; ANGELI et al., 2002).

Acumulam-se ainda na literatura evidências de que os glicocorticóides apresentem efeitos deletérios igualmente sobre estruturas compostas por tecido cartilaginoso.

Chandler & Wright (1958), Chandler et al. (1958) e Hartfall (1958) mostraram pela primeira vez que, em um número significativo de indivíduos com artrite reumatóide, a melhora funcional secundária à injeção intra-articular de hidrocortisona era seguida por evidências radiológicas de destruição excessiva e acelerada da articulação.

Carazzato et al. (1980) estudaram os efeitos da infiltração local de metilprednisolona, xilocaína, água destilada e perfuração com agulha na transição músculo tendínea do tríceps sural em 30 ratos de linhagem Wistar. Os animais foram divididos em dois grupos de 15. Um grupo recebeu 0,2 ml de corticóide à direita e 0,2 ml de solução de xilocaína a 2% à esquerda, o outro grupo foi infiltrado a direita, com 0,2 ml de água destilada, e a esquerda foi feita somente uma perfuração com agulha do mesmo calibre, não sendo injetada nenhuma substância. Os animais foram sacrificados em cinco intervalos de tempo diferentes (24 horas, 1, 2, 3, e 4 semanas). O tríceps sural destes animais foi submetido à análise histológica e teste de resistência. Esses autores observaram necrose músculo tendínea no grupo infiltrado com xilocaína e corticóide, sendo que neste último ocorreu significativa diminuição da resistência tecidual.

Behrens et al. (1975) administraram acetato de hidrocortisona semanalmente na cavidade articular de joelhos de coelhos por intervalos variando entre duas e 12 semanas. À medida que o número de injeções aumentava os autores evidenciaram o surgimento de cistos e fissuras nas zonas médias das cartilagens articulares. Observaram ainda um decréscimo

linear no conteúdo de proteoglicanas, bem como evidências da redução da síntese de proteínas e colágeno.

Papacrhistou et al. (1997) trabalhando com coelhos injetados na articulação do joelho com acetato de betametasona, observaram que o corticosteróide levou à alterações morfológicas dos condrócitos com aumento do seu tamanho e do número de vacúolos e lisossomos citoplasmáticos. Foram observadas ainda distorções da forma dos núcleos e redução do número total de organelas citoplasmáticas.

Higuchi et al. (1980) investigaram os efeitos morfológicos da administração diária intramuscular de hidrocortisona, durante quatro a 12 semanas, sobre a morfologia da cartilagem acetabular de coelhos adultos. O uso de corticosteróides sistêmicos foi associado à redução do volume do retículo endoplasmático rugoso e do aparelho de Golgi dos condrócitos. Foi observado ainda redução dos microvilos celulares e da espessura da matriz cartilaginosa peri-celular. Para os autores tais resultados sugerem fortemente que a síntese de proteoglicans e proteínas pelos condrócitos sejam afetadas pelo uso de esteróides sistêmicos. Tais efeitos já se iniciariam com o uso de doses terapêuticas e se acentuariam com o uso de maiores concentrações das drogas ou pelo seu uso prolongado.

Posteriormente Podbielski & Raiss (1985), investigando os efeitos da administração de dexametasona sistêmica sobre a morfologia de cartilagens articulares de joelhos de ratos, chegaram a conclusões semelhantes. Nesse estudo a porcentagem de condrócitos mortos aumentou progressivamente com o uso de maiores doses do esteróide, sendo aproximadamente 21 % superior a do grupo controle após a administração de um total de 5 mg de dexametasona ao longo de 42 dias.

Itani et al. (1992) trataram coelhos com hidrocortisona intramuscular nas doses de 5mg/kg/dia durante 4 semanas. Após esse período fizeram estudos de microscopia eletrônica nas cartilagens dos joelhos e das traquéias. Os autores constataram reduções das áreas do retículo endoplasmático rugoso nos condrócitos localizados tanto nas cartilagens articulares como também nas cartilagens traqueais. Tais resultados sugerem fortemente que o uso de glicocorticóides, em altas doses ou por longos períodos, leva a prejuízos da síntese protéica

em células cartilaginosas localizadas em qualquer ponto do organismo animal.

ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS NA DOENÇA PERIODONTAL

A liberação de prostaglandinas em decorrência de estímulos inflamatórios é bem estabelecida. A partir de então procurou-se diferentes formas de inibir os efeitos das prostaglandinas e outros produtos derivados do metabolismo do ácido araquidônico.

Em 1973, Goldhaber et al. observaram que o tecido gengival inflamado produzia quantidades significantes de prostaglandinas e associaram, posteriormente, a inibição da síntese de prostaglandinas à considerável redução na quantidade de reabsorção óssea. Os autores hipotetizaram que se as prostaglandinas eram responsáveis pela perda óssea associada com a periodontite, e se os antiinflamatórios eram capazes de inibir a síntese de prostaglandinas, portanto, a utilização destas drogas poderia ter um efeito na redução da perda óssea na doença periodontal em associação com outras modalidades terapêuticas.

Em razão das propriedades pró-inflamatórias das prostaglandinas (PGE₂), por encontrar-se em níveis aumentados na doença periodontal e por estimular a reabsorção óssea tem-se buscado a inibição ou diminuição na sua síntese. Em razão disto, a utilização de antiinflamatórios não esteroideais como um modulador da resposta do hospedeiro poderia diminuir a progressão da perda óssea em vários modelos animais e estudos em humanos.

Nyman et al. (1973), realizaram um dos primeiros estudos utilizando antiinflamatórios não esteroideais em modelo de periodontite experimental em animais, o qual tinha como objetivo avaliar se a resposta inflamatória e reabsorção óssea decorrentes da doença periodontal poderiam ser suprimidas pela administração diária de indometacina (1mg/kg, duas vezes ao dia) em cães, durante 28 dias. Os autores puderam observar com os resultados histológicos e histométricos, que a indução de doença periodontal experimental através da colocação de ligaduras de algodão em uma posição apical a margem gengival poderia induzir uma reação inflamatória aguda nos tecidos periodontais, com aumento do número de osteoclastos, resultando em perda de inserção de tecido conjuntivo e perda óssea alveolar. A

administração diária de indometacina interferiu na resposta periodontal à colocação da ligadura e que se administrada no início da doença periodontal, pode diminuir a progressão da doença e resultar em menor perda óssea alveolar, sugerindo que os antiinflamatórios não esteroidais podem ser considerados potenciais bloqueadores da progressão da doença periodontal.

Em 1981, Nuki et al. realizaram um estudo objetivando a avaliação do efeito da administração de indometacina (12,5mg, duas vezes ao dia) e metronidazol (500mg, duas vezes ao dia) sistêmicos, durante o período de uma semana, sobre a reabsorção óssea em periodontite experimental em cães. Os resultados mostraram que o metronidazol diminuiu a atividade de reabsorção óssea, em razão da supressão dos microorganismos anaeróbios presentes, os quais produziram fatores que reabsorveriam osso ou por induzirem mudanças nos tecidos adjacentes que levariam à reabsorção óssea. Para o grupo da indometacina, os resultados não mostraram efeito significativo sobre a inibição da reabsorção óssea, provavelmente devido à dose e o tempo de duração da administração do medicamento, sugerindo que a redução das prostaglandinas não tenha sido suficiente para avaliar tal parâmetro neste grupo.

Já Weaks-Dybvig et al. (1982), procuraram determinar se as prostaglandinas exerciam atividade sobre os eventos que levavam à perda óssea em modelo de periodontite induzida por ligaduras em macacos. Foi administrado 5mg/kg de indometacina (duas vezes ao dia) nos períodos de uma e duas semanas. Os resultados mostraram que no grupo não tratado, em apenas uma semana, não houve perda significativa de altura óssea interproximal, enquanto que em duas semanas a perda foi bem significativa. No grupo tratado com a indometacina, os animais não exibiram perda óssea significativa durante todo o período do experimento. Na segunda semana, o grupo não tratado e que recebeu ligadura mostrou diminuição da densidade dos osteoclastos, sendo semelhante aos sítios que não receberam ligaduras e que osteogênese ocorria em áreas onde extensa reabsorção óssea tinha ocorrido anteriormente. Os autores puderam concluir que a administração diária da indometacina, em periodontite

induzida em modelos animais, apresentou uma significativa inibição da perda óssea alveolar e do número de osteoclastos presentes.

Em 1983, Lasfargues e Saffar propuseram-se a avaliar o efeito curativo e preventivo da indometacina (2 e 4mg/kg diariamente) sobre a destruição óssea durante a periodontite experimental em hamsters. O tratamento curativo consistiu em indução da doença periodontal por um período de 45 dias, por meio de uma dieta que permite o acúmulo de biofilme bacteriano. Nas seis semanas subsequentes foi administrada a indometacina intraperitonealmente. No tratamento preventivo (ao mesmo tempo da indução da doença) foi administrada a droga por um período de 45 dias. Os resultados demonstraram que houve um aumento da perda óssea no grupo controle, enquanto que o grupo que recebeu a indometacina apresentou uma redução desta perda. A indometacina pareceu ser mais efetiva na redução da perda óssea quando administrada na doença já estabelecida (tratamento curativo) do que no estágio incipiente da doença (tratamento preventivo).

Em 1984, Williams et al. foram os primeiros a avaliarem o efeito de antiinflamatório não esteroidal, flurbiprofeno, na progressão da doença periodontal ocorrendo naturalmente em cães, de moderada à severa. Os animais foram tratados com flurbiprofeno (0,02mg/kg diariamente, via oral) durante o período de um ano. O experimento permitiu a comparação da progressão da perda óssea alveolar em um período de seis meses pré-tratamento com a progressão em doze meses de terapia, por meio de radiografias padronizadas a cada três meses. Os autores observaram que o flurbiprofeno promoveu uma diminuição de 66 a 91% (apenas com a droga e combinada com acesso para raspagem, respectivamente) na taxa de perda óssea alveolar quando comparado com cães não tratados, sendo considerado, portanto, um potente inibidor da perda óssea alveolar em periodontite ocorrendo naturalmente em cães.

Vogel et al. (1986), avaliaram o efeito de um antiinflamatório aplicado topicamente (substituto derivado do oxazolopiridínio a 2%), comparado a indometacina (5mg/kg/dia) administrada sistemicamente na doença periodontal induzida em macacos, por um período de quatorze dias. Os autores puderam observar com os resultados que ambas as drogas inibiram

a reabsorção óssea interproximal associada com a periodontite induzida por ligadura. O substituto derivado do oxazolopiridínio demonstrou um possível aumento na altura do osso alveolar interproximal em relação ao grupo da indometacina, porém não foi estatisticamente significativo. Para o parâmetro clínico de sangramento gengival, o derivado aplicado topicamente diminuiu significativamente a inflamação gengival quando comparado ao grupo placebo e da indometacina administrada sistemicamente.

Em 1986, Jeffcoat et al. estudaram, em cães, o efeito do flurbiprofeno na progressão da doença periodontal ocorrendo naturalmente em um período de dois anos, por meio de radiografias padronizadas, bem como o seu efeito residual no período de seis meses pós-tratamento. Após um período de seis meses de pré-tratamento, os animais receberam 0,02mg/kg de flurbiprofeno, diariamente por um período de 12 meses. Em um lado da boca, os sítios foram tratados com retalho para raspagem e o lado contra-lateral não recebeu qualquer tratamento. A medicação foi suspensa aos doze meses e os animais avaliados nos períodos de três e seis meses pós-tratamento. Os resultados do estudo demonstraram que no grupo tratado com o medicamento, tanto no lado que se submeteu à cirurgia como o que não se submeteu, apresentaram uma diminuição significativa da perda óssea alveolar no período de tratamento, comparados ao grupo que não recebeu o medicamento. Esse efeito residual se manteve por um período de três meses após a suspensão do medicamento, porém aos seis meses o flurbiprofeno não apresentava mais efeito. Os autores não observaram mudanças significativas na inflamação gengival com o tratamento medicamentoso.

Em 1987, Offenbacher et al. estudaram o efeito do flurbiprofeno na progressão da periodontite espontânea e induzida por ligadura em macacos, nos períodos de três e seis meses de tratamento, por meio de medidas clínicas do nível de inserção e análise radiográfica. Os animais foram divididos em três grupos, os quais receberam flurbiprofeno diariamente em baixa dosagem (0,27mg/kg), em alta dosagem (7,1mg/kg) e nenhum tratamento. Baseado nos resultados clínicos e radiográficos, os autores puderam demonstrar que o tratamento com flurbiprofeno inibiu significativamente a perda de inserção e perda óssea no grupo tratado e com ligadura e com doença ocorrendo espontaneamente.

Independente da dosagem, poucos sítios perderam inserção, mais sítios permaneceram estáveis e mais sítios aumentaram o nível de inserção quando comparados ao controle. Também foi observada uma redução significativa do eritema gengival, mesmo na presença de grandes quantidades de biofilme dental. Todos os resultados foram semelhantes para os sítios que apresentavam progressão natural da doença.

Já Williams et al. (1987), compararam o efeito do flurbiprofeno e indometacina sobre a perda óssea alveolar no tratamento da periodontite ocorrendo naturalmente em cães por um período de 12 meses, por meio de análise radiográfica a cada três meses. Os animais foram divididos em três grupos: placebo, 0,02mg/kg de flurbiprofeno e 1mg/kg de indometacina. Os resultados demonstraram que o grupo não tratado apresentou um aumento da perda óssea alveolar durante o período de tratamento (92,8%), enquanto que os grupos tratados apresentaram uma diminuição da atividade de reabsorção aos doze meses do estudo. O grupo tratado com o flurbiprofeno mostrou uma inibição significativa da perda óssea (62,8%) comparada ao controle, enquanto que o grupo tratado com a indometacina mostrou inibição não significativa da perda óssea (23,8%).

Em 1988, Williams et al. avaliaram, radiograficamente, o potencial inibidor do ibuprofeno, em diferentes concentrações (4,0mg/kg, 0,4mg/kg e 4,0mg/kg em um sistema de liberação sustentada), sobre a perda óssea alveolar em cães com periodontite de moderada a severa ocorrendo naturalmente em um período de treze meses, comparado ao placebo. Após um período de pré-tratamento de seis meses, os animais foram tratados com as dosagens de ibuprofeno por um período de sete meses. Os resultados demonstraram que o tratamento com o ibuprofeno, em suas diferentes formulações, mostrou uma significativa diminuição da perda óssea aos sete meses de tratamento (50%-70%), sendo que o grupo que recebeu 0,4mg/kg apresentou uma redução não significativa, quando comparado ao grupo não tratado.

Williams et al. (1989), procuraram avaliar o efeito do flurbiprofeno na diminuição da perda óssea alveolar em pacientes, por meio de avaliação radiográfica, durante um período de dois anos. Após um período de seis meses de pré-tratamento para se calcular a porcentagem

de osso alveolar remanescente, 44 pacientes foram distribuídos em dois grupos: indivíduos que receberam flurbiprofeno (50 mg, duas vezes ao dia) e indivíduos que receberam placebo. No início do tratamento e a cada seis meses, os pacientes receberam raspagem e alisamento radicular e profilaxia dental, onde foi avaliado o índice de sangramento e radiografias realizadas. Os resultados do estudo mostraram uma melhora da inflamação gengival em todos os períodos e para os dois grupos. Ao avaliar a taxa de perda óssea alveolar radiograficamente, observou-se que nos pacientes que receberam o placebo, houve uma diminuição da taxa de perda óssea aos seis e doze meses, quando comparado ao início, no entanto, esta diminuição não se sustentou aos dezoito meses. Enquanto que no grupo tratado com o flurbiprofeno, a taxa de perda óssea foi significante menor aos 6, 12 e 18 meses em relação ao início, mas aos 24 meses, houve um retorno à taxa de perda óssea aos níveis do pré-tratamento, para ambos os grupos.

Em 1990, Heasman e Seymour, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a associação em longo prazo entre a terapia com antiinflamatório não esteroideal e a severidade da doença periodontal. Cinquenta pacientes que tomavam antiinflamatórios não esteroideais para tratamento da artrite reumatóide foram acompanhados por um período de nove anos, por meio dos parâmetros clínicos periodontais (índice de placa, gengival, profundidade de sondagem, retração gengival, perda de inserção, reabsorção óssea e fluxo do fluído crevicular), os quais não demonstraram diferenças significativas tanto para o grupo que tomava o medicamento como o controle, exceto o fluxo do fluído crevicular que apresentou valores maiores para este último. Estes dados podem ser justificados em razão da similaridade entre a severidade da doença em ambos os grupos, em que o efeito da terapia com o antiinflamatório pôde não ser observado.

Utilizando um sistema de liberação local biodegradável contendo flurbiprofeno em bolsas periodontais ou injetando diretamente dentro do tecido gengival inflamado de cães, Yewey et al. (1991), avaliaram o seu efeito sobre os tecidos periodontais e amostras do fluído gengival foram coletadas para análise. Os autores analisaram, in vitro, o tempo de liberação do dispositivo local e observaram que o flurbiprofeno foi liberado de forma

constante por um período de duas semanas. Na avaliação do fluído gengival, os resultados mostraram que o flurbiprofeno manteve uma concentração sustentada por um período de aproximadamente 4 dias, com pico de seis horas. Após um período de 28 dias, a avaliação clínica mostrou redução na profundidade de sondagem (de 0,8mm) e sangramento à sondagem (de 50%). Desta forma, pôde-se concluir que a liberação localizada e controlada de flurbiprofeno pode representar uma abordagem potencial no tratamento da periodontite.

Offenbacher et al. (1992), procuraram avaliar o efeito de alguns antiinflamatórios não esteroidais sobre os níveis dos metabólitos da ciclooxigenase no fluído crevicular e sobre a perda óssea alveolar em periodontite ocorrendo naturalmente em cães. Após um período de seis meses de pré-tratamento, os animais foram separados em grupos e receberam diariamente os seguintes tratamentos: placebo, ibuprofeno sistêmico (0,4mg/kg, 4mg/kg e 4,0mg/kg num sistema de liberação sustentada), naproxeno sistêmico (2mg/kg) e flurbiprofeno tópico (0,3mg em 1,0ml de gel) durante um período de seis meses de tratamento, em que amostras do fluído crevicular e tomadas radiográficas foram obtidas. Na análise do fluído crevicular dos animais não tratados, os níveis de PGE2 aumentaram duas vezes no primeiro mês e aos seis meses alcançaram níveis 5 a 6 vezes maiores do que o inicial. Em relação aos níveis de TXB2, houve uma elevação de 4 a 5 vezes no primeiro mês e aos 6 meses houve uma redução para 2 vezes em relação ao início. Os resultados também demonstraram que todos os antiinflamatórios inibiram perda óssea em comparação com a taxa de perda óssea do período de pré-tratamento, no entanto, essa inibição significativa foi maior para o flurbiprofeno aplicado topicamente, seguido pela liberação sustentada de ibuprofeno e ibuprofeno 4,0mg/kg.

Heasman et al. (1993a), avaliaram a utilização do flurbiprofeno aplicado topicamente como adjunto ao tratamento não-cirúrgico em pacientes com doença periodontal crônica de moderada a avançada, durante um período de 12 meses. Nos três primeiros meses os pacientes receberam instruções de higiene oral e raspagem e alisamento radicular. Os indivíduos do grupo teste utilizaram creme dental contendo 1% de flurbipreno (2 vezes ao dia), enquanto que o grupo controle recebeu um creme placebo. Os parâmetros clínicos

periodontais foram registrados a cada três meses e tomadas radiográficas no início e aos 12 meses. Os resultados mostraram que a melhora nos parâmetros clínicos não apresentou diferenças significativas para ambos os grupos. No entanto, o grupo tratado com o creme dental contendo flurbiprofeno mostrou uma proporção significativamente maior de sítios que apresentaram ganho ósseo (8,0%) do que o grupo controle (3,3%). Também não foi observada diferença significativa no número de sítios que apresentaram perda óssea ou nenhuma mudança para ambos os grupos.

Heasman et al. (1993b), avaliaram o efeito do flurbiprofeno (50mg, duas vezes ao dia) na prevenção da gengivite experimental, durante 21 dias, e o efeito no tratamento, sete dias após a gengivite estabelecida. Por meio da análise dos níveis de PGE2, TXB2 e LTB4 no fluído crevicular, os autores puderam observar que o antiinflamatório inibiu o desenvolvimento da vermelhidão e sangramento gengival, o qual estava associado com a diminuição do TXB2, mas não sobre a PGE2. O efeito da droga no tratamento da gengivite estabelecida mostrou diminuição no sangramento, mas não afetou a vermelhidão gengival, e ainda diminuiu os níveis dos três mediadores avaliados.

Avaliando a inibição da perda óssea em pacientes com periodontite crônica, Jeffcoat et al. (1995), compararam o efeito do ketorolac tópico 0,1% (bochecho), flurbiprofeno sistêmico (50mg, duas vezes ao dia) e placebo durante um período de seis meses, os quais receberam profilaxia e instruções de higiene oral, bem como tomadas radiográficas a cada três meses. Por meio de incorporação de um marcador radioativo (99m-Tc difosfonato) e subtração radiográfica digital, os resultados mostraram, ao final de seis meses, uma significativa perda na altura óssea no grupo placebo (- 0,63mm), enquanto que os grupos tratados com o ketorolac tópico (+0,21mm) e o flurbiprofeno sistêmico (-0,1mm) apresentaram menor perda óssea aos 3 e 6 meses de tratamento, no entanto, o ketorolac preservou 0,3mm mais osso alveolar do que o flurbiprofeno, bem como menor densidade óssea alveolar. Em relação às outras variáveis, observou-se uma tendência ao ganho de inserção clínica para todos os tratamentos (média de 0,4mm), houve significativa diminuição da profundidade de sondagem (média de 1 mm), do índice gengival e índice de placa, porém sem diferenças significativas

entre os grupos. Para os níveis de PGE2 no fluído crevicular, os grupos que receberam as drogas apresentavam menores níveis, os quais estavam associados com menores perdas ósseas alveolares.

Li et al. (1996) estudaram o efeito do cetoprofeno, na forma de creme, no tratamento da doença periodontal experimental e ocorrendo naturalmente em macacos, durante um período de seis meses, por meio de parâmetros clínicos, radiográficos e do fluído crevicular. Foram utilizadas duas formulações contendo cetoprofeno a 1%, com e sem vitamina E, aplicadas topicamente uma vez ao dia, comparadas ao grupo controle (placebo). Os resultados da avaliação clínica para formação de placa, edema, vermelhidão gengival, sangramento e profundidade de sondagem não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos. Por meio da subtração radiográfica, os grupos tratados com o cetoprofeno, nas diferentes formulações, apresentaram efeitos positivos significantes no tecido ósseo comparados ao controle, mostrando um aparente ganho ósseo aos três e seis meses, não estatisticamente significativo, nos animais com ligadura, enquanto que para os animais com doença periodontal ocorrendo naturalmente, houve uma inibição da perda óssea, porém, o aparente ganho ósseo não mostrou diferença significativa. Quanto aos níveis bioquímicos no fluído crevicular, o LTB4 apresentou uma diminuição precoce e significativa no primeiro mês, enquanto que a PGE2 aos 2 e 3 meses. Os autores puderam concluir que a aplicação tópica do cetoprofeno pode inibir os níveis de LTB4 e PGE2 e alterar a atividade óssea alveolar em modelo de periodontite experimental.

O primeiro estudo com o objetivo de avaliar o efeito de um inibidor seletivo de COX-2, meloxicam, na prevenção da reabsorção óssea alveolar em modelo de periodontite experimental bilateralmente, foi realizado por Bezerra et al. (2000), utilizando 48 ratos Wistar, comparando a indometacina, um antiinflamatório não esteroideal convencional. O meloxicam foi administrado diariamente nas concentrações de 0,75, 1,5 e 3mg/kg, enquanto que a indometacina nas concentrações de 0,5; 1 e 2 mg/kg, subcutaneamente por um período de sete dias, após os quais os animais foram sacrificados para análise macroscópica e histológica. Os resultados mostraram que, para o grupo controle, houve significativa

reabsorção óssea alveolar, presença de um severo infiltrado de células mononucleares e aumento do número de osteoclastos. Para o grupo tratado com as drogas, observou-se uma inibição da perda óssea alveolar associada a uma redução do infiltrado mononuclear e do número de osteoclastos, bem como inibição da neutrofilia e linfocitose a valores semelhantes ao grupo controle, porém, sem diferenças entre si.

Holzhausen (2002), realizou uma análise histológica e radiográfica, utilizando um inibidor específico de COX-2, Celecoxib, no tratamento da doença periodontal experimental em 180 ratos Wistar. A droga foi administrada diariamente, via oral, nas concentrações de 10 e 20mg/kg nos períodos de 5, 18 e 30 dias. Os resultados mostraram que o celecoxib, em ambas as concentrações, diminuiu a atividade de reabsorção óssea alveolar e diminuiu o número de osteoclastos em relação ao grupo que não recebeu a droga aos 30 dias. E no período inicial (cinco dias), para o grupo controle, o infiltrado inflamatório foi predominante agudo e nos períodos de 18 e 30 dias um infiltrado crônico era predominante. Já nos animais tratados com celecoxib, houve uma diminuição do processo inflamatório agudo no período inicial e uma exacerbação nos períodos mais tardios. Radiograficamente, os resultados mostraram que a droga exerceu um efeito positivo sobre a redução da perda óssea alveolar nos períodos de 5 e 18 dias, no entanto, ao final do experimento, (trinta dias), não houve diferença significativa na média da perda óssea entre os grupos.

Nassar et al. (2003), avaliou radiograficamente a perda óssea alveolar em ratos com doença periodontal induzida por ligadura quando do uso do antiinflamatório não esteroide, o meloxicam. Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo experimental recebeu diariamente 7,5 mg / kg da droga por via oral, e o grupo controle não recebeu nenhuma administração. Os animais foram sacrificados nos períodos de 5, 15 e 30 dias do início do experimento. Houve em média menor perda óssea alveolar nos grupos que usaram o medicamento no período de 15 dias em comparação com os que não usaram. Os autores concluíram que o meloxicam atuou na fase de transição entre a fase aguda e crônica diminuindo a intensidade da doença periodontal.

Em 2005 Cavagni et al. avaliaram o uso sistêmico da dexametasona na patogênese da perda óssea alveolar induzida em ratas. Foram formados dois grupos, sendo que o grupo teste recebeu 0,5 mg/kg de dexametasona subcutaneamente a cada três dias durante um período de 30 dias. O grupo controle recebeu a mesma quantidade de solução salina. Após 30 dias os animais foram sacrificados e as mandíbulas removidas, preparadas com hipoclorito de sódio e coradas com azul de metileno para a evidenciação da junção cimento-esmalte. A análise morfométrica foi realizada por fotografias digitais padronizadas e a distância entre a junção cimento-esmalte foi medida pelo programa Image Tool 3.0. Os resultados mostraram que a dexametasona aumentou significativamente a perda óssea alveolar na periodontite induzida por ligadura em comparação ao grupo controle.

Ainda em 2005, Nassar et al. avaliaram o efeito de um inibidor seletivo da ciclooxigenase - 2 na progressão da perda óssea alveolar durante o desenvolvimento da doença periodontal desenvolvida em ratos. Utilizaram-se quarenta ratos que foram divididos em oito grupos (n=5). Ligaduras de fio de algodão foram colocadas na margem gengival do primeiro molar inferior direito de alguns ratos. Dois grupos foram tratados por 5 ou 15 dias com uma dose oral de 15 mg/Kg de peso corporal do inibidor seletivo da COX-2. Os outros grupos foram tratados como controle positivo (Sham) ou controle negativo recebendo a indução da doença periodontal ou recebendo a indução da doença periodontal associado a doses orais de solução salina, dentro de cada período experimental. Radiografias digitais padronizadas foram realizadas para medir a perda óssea mesial do primeiro molar inferior de cada rato. Os resultados indicaram que os grupos tratados com meloxicam após cinco dias apresentavam perda óssea alveolar significativamente menor. Por outro lado, a perda óssea não foi significativamente menor após 15 dias de tratamento com o antiinflamatório em comparação com outros grupos. Os autores concluíram que o tratamento sistêmico com meloxicam pode modificar a progressão da periodontite experimental em ratos no período inicial.

Em 2006, Breivik et al. realizaram dois experimentos para testar os efeitos da aplicação sistêmica da dexametasona e do tianeptine, no desenvolvimento da doença

periodontal em ratos. No primeiro experimento, ratos recém-nascidos, receberam a aplicação intraperitoneal de dexametasona nas doses de 0,5 µg/g , 0,3 µg/g e 0,1 µg/g nos três primeiros dias de vida, respectivamente. Após completarem três meses, foi realizado a indução da doença periodontal colocando uma ligadura no segundo molar superior direito e mantida até o período de sacrifício, totalizando 34 dias. O grupo controle recebeu injeção de solução salina pela mesma via de aplicação. O segundo experimento foi realizado com ratos adultos. Esses animais foram divididos em dois grupos, onde o grupo experimental recebeu tratamento crônico com 10mg/Kg de uma droga anti-depressiva chamada de tianeptine, e o grupo controle recebeu a mesma quantidade de solução salina. Após 35 dias da colocação da ligadura os ratos foram sacrificados. Os resultados do experimento 1 demonstraram que os animais tratados com dexametasona tinham uma perda óssea significativamente menor, com redução na expressão de receptores glicocorticóides no hipocampo, concentrações mais baixas de corticotestosterona e altas níveis de fator de necrose tumoral a comparado aos do grupo controle. Os resultados do trabalho 2 evidenciaram que os ratos tratados com tianeptine também tiveram uma menor perda óssea periodontal, porém com níveis mais altos de fator de necrose tumoral a e fator transformador de crescimento 1 beta, porém os níveis de corticotestosterona não tiveram diferença significativa. Os autores relatam que as respostas orgânicas individuais, sejam de origem psicológica, química ou imunológica frente a agentes agressores podem ser importantes para explicar a variabilidade na susceptibilidade à doença periodontal e que esses resultados poderiam abrir novas opções para a sua prevenção.

LASER DE BAIXA INTENSIDADE E TERAPIA FOTODINÂMICA

O uso da radiação laser na medicina e na odontologia tem sido objeto de pesquisa nas últimas décadas. A palavra LASER é o acrônimo "Light Amplification by Stimulated Emission Radiation". 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).

Em 1917, Einstein elaborou o fundamento para o laser através da introdução do fenômeno de emissão estimulada. Este fenômeno ocorre pela transição de um átomo para um estado de menor energia sob a influência de radiação eletromagnética (OKAZAKI et al., 1998).

O primeiro material a demonstrar a emissão do laser foi o cristal sintético de rubi. O laser de rubi (estado sólido) foi desenvolvido por Theodore Maiman em 1960. Rapidamente após isto, pesquisadores em todo o mundo desenvolveram uma vasto número de materiais capazes de emitir feixes de laser. O primeiro laser gasoso foi de HeNe, desenvolvido em 1961, sendo o primeiro com radiação contínua (não pulsada). Em 1964 foi desenvolvido o primeiro emissor laser líquido (VAN NOORT, 1987).

O princípio de amplificação está 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.

Os lasers em baixa intensidade (LLLT) mais utilizados em odontologia são os diodos de arseneto de gálio-alumínio (GaAlAs), semicondutor de emissão contínua ou pulsada. O bombeamento dos lasers semicondutores pode ser realizado de várias maneiras como excitação produzida por uma corrente elétrica. Eles apresentam potências médias de algumas centenas de miliwatts, em sua maioria apresentam emissão contínua ou em alguns casos emitem pulsos curtos e com comprimentos de onda na faixa do vermelho até infravermelho. Além disso, é sabido que estes comprimentos de onda atingem grande profundidade de penetração nos tecidos, pois a água e a hemoglobina oferecem um baixo coeficiente de absorção para este tipo de radiação (RIBEIRO, 2000).

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 de células, ou por mudanças na atividade fisiológica de células excitáveis (KARU, 1989; RIBEIRO, 2000).

Os lasers estimulam fibroblastos, colaborando na produção de fibras colágenas mais ordenadas, determinando um melhor padrão de cicatrização nas lesões (BASFORD, 1986). Esta modalidade terapêutica pode proporcionar efeitos antiinflamatórios, analgésicos e bioestimulantes, aumentando a microcirculação da área irradiada, promovendo melhores condições de reparação (MESTER; YASZSAGI-NAGI, 1973).

Estudos iniciais do laser no processo de reparo tecidual (MESTER et al., 1968; MESTER et al., 1971; MESTER et al., 1973) demonstraram a efetividade dos lasers em baixa intensidade em acelerar o processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos.

Outros trabalhos usando esse mesmo modelo experimental demonstraram que o laser teria efeitos estimulantes sobre a síntese de fibras colágenas, fibras elásticas e na proliferação de miofibroblastos (KANA et al., 1981; REENSTRA et al., 2001; PUGLIESE et al., 2003; HOURELD e ABRAHAMSE, 2007); além de reduzir a resposta inflamatória (SAITO et al., 1991; SHIMIZU et al., 1995; MEDRADO et al., 2003; MENDEZ et al., 2004) fazendo com que feridas tratadas por essa luz apresentassem uma contração e epitelização mais rápida (SURINCHAK et al., 1983; GARCIA, 1992; BASFORD, 1995; AL-WATBAN e ZHANG, 1997).

Porém alguns estudos na literatura não encontraram esses mesmos efeitos benéficos do laser durante o processo de reparo de feridas (SURINCHACK et al., 1983; JONGSMA et al., 1983; HUNTER et al., 1984; MCCAUGHAN et al., 1985; ANNEROTH et al., 1988; HALL et al., 1994; PETERSEN et al., 1999; WALKER et al., 2000).

Apesar dessa discordância, outros estudos têm indicado que a terapia com laser em baixa intensidade pode reduzir a severidade e aumentar a velocidade de reparação de lesões da mucosa bucal associadas à quimioterapia e à radioterapia (BASFORD, 1986; MIGLIORATI et al., 2001; RUBENSTEIN et al., 2004).

A terapia com o laser em baixa intensidade tem efeitos mais pronunciados sobre órgãos ou tecidos enfraquecidos, tais como em pacientes que sofrem algum tipo de desordem funcional ou de injúrias ao tecido (RIBEIRO, 2000). Acredita-se que a energia da luz laser é mais bem aproveitada onde é mais necessária. Isso também tem sido observado em células cultivadas onde o efeito dos lasers em baixa intensidade é mais pronunciado quando aplicados sobre culturas crescidas em déficit nutricional (ALMEIDA-LOPES et al., 2001; PEREIRA et al., 2002; MARQUES et al., 2004; AZEVEDO et al., 2006).

Neste sentido estudos dos efeitos da radiação laser no processo de reparo em animais sistemicamente alterados por diabetes foram testados (REDDY, 2003; BYRNES et al., 2004). Os resultados destes estudos indicaram que a aplicação do laser aumentou a produção e maturação de colágeno, além da força de tensão das feridas (REDDY, 2003). A expressão do fator de crescimento de fibroblastos triplicou após a aplicação da terapia com laser em baixa intensidade (BYRNES et al., 2004).

Estudos no processo de cicatrização em feridas cutâneas em animais imunossuprimidos pela aplicação sistêmica de drogas também foram realizados. Pessoa et al. (2004) avaliaram o efeito do laser de baixa intensidade (AsGaAl, 904 nm, 2,75 mW, 2.900 Hz, 120 segundos, totalizando 33 J/cm²) no processo de cicatrização de feridas em ratos tratados com corticosteróide. Para isto, foram utilizados 48 ratos, divididos nos seguintes grupos: Grupo 1: os animais não receberam nenhum tratamento, nem local nem sistêmico; Grupo 2: as feridas foram tratadas com laser em baixa intensidade; Grupo 3: os animais receberam injeção intraperitoneal de esteróide (2 mg/kg de peso corporal); Grupo 4: os animais receberam o mesmo tratamento sistêmico do grupo 3, sendo as feridas tratadas com laser em baixa potência. Os resultados mostraram que as feridas tratadas com o esteróide tiveram um atraso na cicatrização, enquanto o LLLT acelerou este processo com uma maior deposição de colágeno e diminuição do infiltrado inflamatório. Os autores concluíram que o LLLT acelerou a cicatrização nos ratos tratados com corticóide, balanceando os efeitos indesejáveis dessa droga no processo de cicatrização tecidual.

Em 2005, Nóbrega também testou os efeitos bioestimuladores do laser em feridas de ratos tratados sistemicamente com aplicações diárias de 2mg/kg de fosfato dissódico de dexametasona. O laser utilizado foi o AsGaAl, 660 nm, com energia total de 3,51 J/s. Os resultados do estudo foram similares aos de Pessoa et al. (2004), que demonstraram que o uso crônico de corticóides resulta em retardo no processo de reparo e que a aplicação do laser favoreceu a cicatrização das feridas em animais imunossuprimidos.

Os efeitos prejudiciais da nicotina nos tecidos periodontais e processo cicatricial são bem conhecidos (CESAR-NETO et al., 2006). Neste sentido, Macarini (2004) avaliou a influência da terapia do LLLT sobre o processo de reparo de feridas cutâneas no dorso de ratos tratados com nicotina. Cinquenta e nove ratos receberam injeção subcutânea de soro fisiológico, enquanto cinquenta e seis animais receberam injeções subcutâneas de nicotina durante todo o período experimental. Decorridos 30 dias das aplicações, foi criada uma ferida cirúrgica no dorso de cada animal por meio de um punch de 8 mm de diâmetro. Os animais que receberam soro fisiológico foram divididos em dois grupos: grupo I (controle), onde as feridas não receberam nenhum tipo de tratamento; e grupo II, onde as feridas foram tratadas com LLLT (AsGaAl, 660 nm, 40 mW, 3,0 J, 0,56 W/cm²). Os animais que receberam injeção de nicotina também foram divididos em dois grupos: grupo III, onde as feridas não receberam tratamento; e grupo IV, onde as feridas foram tratadas com LLLT nos mesmos parâmetros do grupo II. Decorridos 3, 7 e 14 dias do procedimento cirúrgico os animais foram sacrificados. Na análise histológica, o grupo III mostrou um processo de reparação menos diferenciado que o grupo I (controle). As feridas do grupo II apresentaram um processo de reparo acelerado quando comparadas às do grupo I, assim como as feridas do grupo IV apresentaram um reparo mais avançado em relação ao grupo III. O autor verificou que a nicotina retarda, enquanto o LLLT acelera o processo de reparo de feridas cutâneas.

Em 1997, Garcia et al, com o objetivo de avaliar a ação bactericida do laser de bioestimulação em colônias de *Streptococcus* e *Staphylococcus*, coletaram amostras da mucosa da rinofaringe de pacientes, através de um swab e procedeu à cultura e isolamento das bactérias. O laser utilizado foi infravermelho de emissão pulsátil, 904 nanômetros de

comprimento de onda, utilizado por intermédio de fibra ótica de aproximadamente 1 mm de diâmetro. A frequência e potência foram de 3.700 Hertz e de 3,5mW respectivamente, com tempos de exposição de 3, 6 e 12 minutos. Para se observar a viabilidade celular foi utilizada a contagem de colônias. Os resultados mostraram que no tempo de seis minutos a ação bactericida do laser foi em torno de 93% e no de 12 minutos aproximadamente 99%. Os autores comprovaram que o laser promoveu ação letal sobre as colônias bacterianas em todos os ensaios realizados, tendo maiores efeitos bactericidas relacionados aos maiores tempos de exposição à radiação laser.

Nos últimos anos temos notado que a comunidade científica mundial tem dado atenção especial à terapia fotodinâmica. Essa terapia pode agir contra bactérias sem causar resistência, ao contrário de muitos antimicrobianos (GOODSON, 1989; KALDAHL et al., 1993; RAMS; SLOTS, 1996; KLEINFELDER et al., 1999; DÖRTBUDAK et al., 2001).

Esta terapia fundamenta-se na possibilidade dos lasers interagirem com drogas fotossensibilizadoras (cromóforos), o que promoverá um maior efeito fotobiológico, podendo inclusive, promover a ação letal sobre células e microorganismos. Neste sentido, a terapia fotodinâmica surge como um tratamento alternativo ao uso de agentes antimicrobianos tradicionais (WILSON et al., 1995; SOUKOS, et al., 1996; BAUER, et al., 2001). Durante esse processo, componentes celulares fotossensíveis passam para um estado excitado quando expostos a uma luz de comprimento de onda complementar que é caracterizado pela passagem dos elétrons para níveis de energia superiores. Neste estado excitado, o fotossensibilizador pode interagir com o oxigênio molecular iniciando a formação de oxigênio singleto altamente reativo (fotoprocesso Tipo II) ou interagir com outras moléculas como aceptores de elétrons resultando na produção de hidroxilas e outros radicais orgânicos (fotoprocesso do Tipo I) (MACROBERT et al., 1989). Os produtos dessas reações fotoquímicas podem então danificar componentes essenciais das células ou alterar as atividades metabólicas de maneira irreversível resultando na morte bacteriana (MALIK et al., 1990; OCHSNER, 1997). Essas reações podem também aumentar a angiogênese nos tecidos, o que proporciona mais oxigênio na área (BENSTEAD e MOORE, 1989).

Como a maioria das espécies bacterianas não apresenta componentes fotossensíveis, a utilização de um fotossensibilizador que atrai para si a luz e inicia a formação de radicais livres é importante (WILSON et al., 1992). Assim, células desprovidas de componentes fotossensíveis endógenos podem se tornar sensíveis à luz se forem coradas com fotossensibilizadores ou agentes cromóforos exógenos como o azul de metileno, azul de toluidina, eosina e hematoporfirinas (WILSON, 1993). 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 da luz utilizada e não devem apresentar danos tóxicos ao hospedeiro (WILSON et al., 1992).

Inicialmente a terapia fotodinâmica foi utilizada para promover ação letal sobre células cancerosas (TOMASELLI et al., 2001). Vários estudos demonstraram efeitos significativos da terapêutica fotodinâmica em carcinomas basocelulares de pele com taxas de resposta completa variando de 50% a 90%. Wilson et al. (1992) trataram 37 pacientes com porfirina sódica associado ao laser de baixa intensidade, obtendo resposta completa em 88%; Kennedy et al (1990) trataram 80 lesões cancerosas com ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) tópico com posterior irradiação do laser observando resposta completa em 90% e bons resultados estéticos. Cairdunff et al. (1994) trataram 16 lesões também com 5-ALA tópico mais o laser de baixa intensidade obtendo resposta completa em 50%. Fijan et al. (1995) utilizaram PDT com 5-ALA tópico em 49 pacientes com carcinomas basocelulares superficiais, obtendo resposta em 88%.

Desta forma, a terapia fotodinâmica tem despertado o interesse de muitos estudiosos, e nos últimos anos passou a ser testada para outras doenças sendo inclusive aprovada pela U.S. Food and Drug Administration (FDA) e por inúmeras agências de saúde ao redor de todo mundo (DOUGHERTY, 2002).

A descoberta que certos corantes quando expostos a luz solar e ao ar provocavam a morte de bactérias foi observado pela primeira vez por Raab, em 1900. Hoje inúmeros agentes fotossensibilizadores tem sido utilizados. Dentre estes, destaca-se o azul de

toluidina O, cristal violeta, fitalocianina dissulfonada de alumínio, hematoporfirinas, tionina, protoporfirina e azul de metileno. Relatos encontrados na literatura demonstram que o azul de metileno foi utilizado como coadjuvante no tratamento de diferentes patologias, face suas propriedades ansiolíticas e antidepressivas (EROGLU; e CAGLAYAN, 1997; OLIVEIRA; GUIMARÃES, 1999), capacidade de inativação do vírus sobre suspensão de células vermelhas (SKRIPCHENKO et al. 1997) e capacidade de ativar o efeito fotobactericida sobre diferentes microorganismos (WAINWRIGHT et al. 1999; USACHEVA et al. 2001; FERREIRA, 2002; YILMAZ et al. 2002; CHAN; LAI, 2003).

Rocha et al. (1996) relatam que o Azul de Toluidina-O (TBO) vem sendo utilizado há mais de três décadas para evidênciação clínica de neoplasias malignas epiteliais. Trata-se de um corante monocromático da família das tiasinas que apresenta grande afinidade pelo DNA dos núcleos celulares e pelo RNA citoplasmático. A penetração e retenção do TBO nas células displásicas e anaplásicas são explicadas principalmente em virtude de sua afinidade pelo DNA nuclear, que é significativamente maior nessas células do que nas normais.

Alguns fatores podem influenciar na PDT, como o coeficiente de absorção do corante, energia de fonte de luz, a concentração do fotossensibilizador e o tempo de duração do estado tripleto da molécula (OLERUD et al., 1995; WAINWRIGHT et al., 1998; HAMBLIN, et al., 2002; MAISCH et al., 2007).

Atualmente a terapia fotodinâmica tem sido estudada como um agente antimicrobiano, por isso alguns autores a denominaram de quimioterapia fotodinâmica antimicrobiana (PACT) (WAINWRIGHT et al., 1999; RIBEIRO; e ZEDEL, 2004), e, esta técnica mostra-se efetiva, in vitro, contra bactérias, incluindo cepas resistentes a drogas (BHATTI et al. 1997; WAINWRIGHT et al., 1998;). A morte bacteriana ocorre quando o corante absorve a energia do Laser e isso o leva a produzir substâncias altamente reativas, que por sua vez causam danos ao microorganismo ou célula-alvo (NIKAIDO, 1989; MALIK et al., 1992; ZEDEL et al., 2000; USACHEVA et al., 2003).

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. Nesse estudo foram testados 27 compostos e 16 deles tinham capacidade de matar *S. sanguinis* quando associados a um laser HeNe. Os mais efetivos foram o azul de orto-toluidina (TBO), azul de metileno, alumínio dissulfonado fitalocianino (AlPcS₂), o cristal de violeta e a dihematoporfirina éster (DHE). Neste mesmo estudo, TBO e azul de metileno mostraram-se eficazes na redução de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycescomitans* in vitro. Em todos os casos, o uso do corante na ausência da luz laser não apresentou efeito significativo sobre a viabilidade dos microorganismos testados.

No mesmo ano, Dobson e Wilson (1992) estudaram a ação do laser HeNe associado ao azul de orto-toluidina ou azul de metileno sobre *A. actinomycescomitans*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* e *S. sanguinis*. Neste trabalho, a redução no número de microorganismos, demonstrada pelo aparecimento de zonas de inibição de crescimento, foram encontradas para os quatro microorganismos com ambos os corantes na concentração de 0,05% e densidade de energia de 16,5 J/cm².

Wilson et al (1993) realizaram um trabalho com culturas de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycescomitans*. Essas foram tratadas com fotossensibilizadores e então expostas a luz do laser de HeNe com 7,3 mW de potência 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 do número de colônias bacterianas. O laser na ausência de agentes fotossensibilizadores não foi efetivo contra os microorganismos estudados. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica com determinados agentes fotossensibilizadores foi efetiva na redução do número de bactérias podendo ser utilizada para a eliminação de periodontopatógenos em sítios doentes.

Ainda em 1993, Sarkar et al. 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 viável 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 *Streptococos*. Os resultados demonstraram que a associação do laser com o fotossensibilizador reduziu de forma significativa a viabilidade desses microorganismos, com média de reduções de 91,1% para aeróbios, 96,6% para anaeróbios, 100% para as bactérias pigmentadas de negro, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum* e 94% para *Streptococos*. O azul de toluidina utilizado de forma isolado não foi efetivo na redução da viabilidade das bactérias. Baseados nesses resultados, os autores concluíram que lasers de baixa potência em conjunto com os devidos corantes, podem ser úteis como coadjuvantes ao debridamento mecânicos no tratamento da doença periodontal.

Burns et al. (1994), estudaram o efeito da terapia fotodinâmica em quatro tipos de bactérias. Suspensões de *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei* e *Actinomyces viscosus* foram expostas ao laser de GaAlAs na presença de corantes. O laser ou os corantes quando não associados, não foram efetivos na redução bacteriana, porém quando houve a aplicação do corante e logo após a luz laser houve uma diminuição significativa de todos os quatro tipos de bactérias. Uma apreciável redução dos microorganismos foi observada com tempos de exposição variando entre 30 e 90 segundos. Os autores relataram que essa terapia pode ser útil para a eliminação de bactérias cariogênicas em lesões de cárie antes do tratamento restaurador.

Em 1994 Wilson relata em seu estudo de revisão de literatura que a terapia realizada com Laser atuando em baixa intensidade pode ser influenciada pelo pH, conteúdo de água, presença de matéria orgânica, densidade da população celular e intensidade do fluido sulcular. Relata também que muitas bactérias da cavidade oral não apresentam cromóforos externos para absorver a luz laser no espectro vermelho ou infravermelho, exceção feita às

espécies pigmentadas de preto como as *Porphyromonas* e *Prevotellas* que apresentam protohematoporfirina e protoporfirina respectivamente, como cromóforos naturais. O autor relata também que a terapia fotodinâmica pode ser utilizada na terapia de manutenção para prevenir a recolonização na região sub-gengival por bactérias periodontopatogênicas.

Haas et al. (1997) realizaram um estudo para avaliar a afirmativa de Wu-Yuan et al. em 1995 quando relataram que diferentes superfícies de implantes iriam influenciar na aderência do biofilme bacteriano. Frente a esta afirmativa os autores realizaram um estudo in vitro para avaliarem 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 forsythensis*, e foram divididos 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 de 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. Nas superfícies tratadas apenas com azul de toluidina e Laser isoladamente os autores não observaram diminuição nas culturas bacterianas além de que culturas negativas foram obtidas apenas com a combinação do Laser e azul de toluidina. Os autores concluíram o estudo 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.

Lopes Jr., (2000) avaliou o uso de droga fotossensibilizadora associada ou não ao laser de baixa intensidade sobre os eventos biológicos do processo de reparação alveolar em feridas de extração dental infectadas. Foram utilizados 48 ratos que após indução anestésica sofreram exodontia do incisivo superior com subsequente isquemia alveolar. Estes

alvéolos foram então contaminados com secreção purulenta de ratos que apresentavam alveolite. Após três dias da evolução da alveolite estes animais foram divididos em 4 grupos. Grupo I - foi tido como grupo controle e nenhum tipo de tratamento foi realizado. Grupo II - os ratos pertencentes a este grupo receberam apenas curetagem alveolar e posterior irrigação com azul de metileno na concentração de 100 µg/mL. Grupo III - nestes ratos o autor realizou a curetagem alveolar e posterior aplicação do Laser de Arseneto de Gálio e Alumínio com 635 nm de comprimento de onda com emissão pulsada de forma pontual, depositando na área 3,2 J/cm² de densidade energética perfazendo um tempo de 240 segundos. Após 7, 15, 21 e 28 dias da realização do tratamento os ratos foram sacrificados e realizou-se a análise histológica. Esta análise permitiu ao autor observar que no grupo controle houve um atraso na cronologia de reparação alveolar e que o uso da droga fotossensibilizadora não promoveu efeitos indejesáveis à reparação alveolar e o uso isoladamente do Laser promoveu uma reparação mais evoluída e diferenciada que o grupo controle. Quando o autor realizou a terapia fotodinâmica o processo de reparação alveolar demonstrou-se mais evoluído e diferenciado quando empregou a droga isoladamente ou o laser. O autor relata que estes resultados abrem novas perspectivas de emprego do Laser atuando em baixa intensidade e reforçam a possibilidade do emprego de droga fotossensibilizadora para se obter a fotobiomodulação.

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/cm² e 300 J/cm². 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 promoveu 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.

Com o objetivo de avaliar a eficácia do azul de metileno e do azul de toluidina - O na fotossensibilização letal de microorganismos patogênicos Usacheva et al. (2001) 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/cm² e variando a intensidade de potência de 50 a 100 mW/cm². 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.

Com o objetivo de avaliar o efeito da terapia fotodinâmica sobre a *Cândida albicans* Teichert et al. (2002) utilizaram cepas resistentes ao tratamento convencional da candidíase as quais foram coletadas de pacientes HIV - positivo. Estas cepas foram inoculadas na cavidade oral de ratos que posteriormente foram submetidos à aplicação tópica de 1 mL do azul de metileno nas concentrações de 250, 275, 300, 350, 400, 450 e 500 $\mu\text{g/mL}$. Após 10 minutos da aplicação do corante os autores aplicaram o Laser de diodo com comprimento de onda de 664 nm com uma potência de 400 mW, por um período de 687,5 segundos resultando em uma densidade energética de 275 J/cm². Após aplicação única realizaram exame de cultura da coleta das amostras e os animais foram sacrificados para análise histológica da

língua. Os resultados obtidos pelos autores mostram uma completa eliminação dos microorganismos quando utilizaram as concentrações de 450 e 500 µg/mL do corante. Na análise histológica os ratos tratados com terapia fotodinâmica não apresentaram candidíase e insignificante resposta inflamatória, sendo que nos ratos do grupo controle as línguas apresentaram-se com elevada taxa de candidíase restrita as camadas de queratina. Os autores concluíram o estudo relatando que a terapia fotodinâmica é uma alternativa em potencial para o tratamento da candidíase, apresentando como vantagens de ser uma terapia realizada topicamente sem a interferência com outros medicamentos aplicados sistemicamente, ser uma técnica simples, inespecífica atingindo um grande número de microorganismos e uma terapia que pode ser repetida sem o risco da seleção de cepas resistentes e indicam a utilização do rato como modelo experimental para avaliação da terapia fotodinâmica.

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 µg/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 µL 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 µg/mL do corante com densidade de energia de 110 J/cm² resultando em um tempo de exposição de 5 minutos; 50 µg/mL do corante com densidade de energia de 170 J/cm² resultando em um tempo de exposição de 8 minutos e 200 µg/mL do corante com densidade de energia de 340 J/cm² resultando em um tempo de exposição de 16 minutos. Os autores também avaliaram o efeito isoladamente do Laser e do corante. Após três 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 um minuto e dez minutos da aplicação do corante. Os resultados obtidos indicam que nenhum animal apresentou-se com estresse em todo o período experimental e

quando avaliou 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 µg/mL por dez 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 à terapia fotodinâmica, relatando ainda que esta terapia fosse 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.

Dougherty (2002) em seu artigo de revisão de literatura relata que a morte celular promovida pela terapia fotodinâmica é mediada pela formação de oxigênio singlete e outra espécies de oxigênio reativo, causando danos celulares direto pela diminuição da vascularização sanguínea contribuindo para a destruição tumoral. Relata também que a necrose e a apoptose ocorrida frente à terapia fotodinâmica depende do fotossensibilizante e da condição de tratamento. O autor salienta que esta terapia promove a ativação de macrófagos, neutrófilos e células T, resultando na liberação de várias citocinas como a IL - 6, IL - 10 e TNF - α . No final do artigo o autor chama atenção para o mecanismo de ação da terapia fotodinâmica em modelos experimentais em animais e que os resultados obtidos apresentam semelhanças com os resultados em humanos.

Diante ao número de trabalhos in vitro que mostram o efeito letal da terapia fotodinâmica sobre bactérias periodontopatogênicas Yilmaz et al., (2002) realizou um estudo

para avaliarem o efeito desta terapia no tratamento da doença periodontal em humanos. O grupo de estudo foi composto por dez pacientes os quais não receberam nenhum tratamento periodontal e uso de antibióticos seis meses antes do estudo. Os autores utilizaram quatro dentes unirradiculados sendo um por quadrante o qual deveria apresentar uma perda óssea de quatro mm na superfície mesial. Os pacientes foram divididos em quatro 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 cinco Hz com potência de 30 mW e densidade de energia de 1,6 J/cm². 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 três 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 subgingival 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.

Frente ao número que trabalhos que utilizam diversos emissores com comprimentos de onda variados e parâmetros tendo assim uma gama de resultados contraditórios na literatura do efeito do Laser na cultura de microorganismos Nussbaum et al. (2002) realizaram um estudo para avaliarem o efeito do comprimento de onda sobre determinados microorganismos. Os autores utilizaram emissores com 630, 660, 810 e 905 nm de comprimento de onda sobre a cultura de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O Laser de He-Ne com comprimento de onda de 630 e 660 nm atuaram com densidade de energia variando de 1, 2, 5, 10, 20 e 50 J/cm². O Laser com 810 nm de comprimento de onda foi utilizado com densidade de energia de 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 J/cm² e este emissor os autores utilizaram para o grupo composto pelas *Escherichia coli*. Os resultados obtidos permitiram que os autores observassem uma mudança significativa no crescimento bacteriano quando utilizaram densidades de energia variando de 1 a 20 J/cm² e o comprimento de onda de 630 nm parece ser o mais comumente associado com a inibição do crescimento bacteriano favorecendo a cicatrização de feridas.

Navratil e Kymplowa, (2002) realizaram uma revisão de literatura para avaliarem a contra-indicação do uso do laser de baixa intensidade e, se o seu efeito é verdadeiro ou não. Os autores relatam que a contra-indicação está na incidência da luz Laser em células malignas pelo seu efeito biomodulador. Segundo os autores efeito biomodulador é dado pela ativação de enzimas da cadeia respiratória, com uma simultânea amplificação do efeito antioxidante. Com o aumento de ATP na célula, esta tem o processo de replicação do DNA mitocondrial acelerado. Estes dados podem ser comprovados pelo consumo de oxigênio e glicose no metabolismo celular estarem aumentados. Com este efeito, os autores relatam que

há a necessidade de uma boa anamnese e exame clínico para não ocorrer à exposição de células malignas a luz Laser o que poderia promover um efeito bioestimulativo nestas células. Os autores observaram também na literatura o efeito do Laser sobre a viabilidade das bactérias, quando estas são submetidas ao Laser. O efeito positivo desta terapia irá proporcionar uma cicatrização mais diferenciada nos ferimentos purulentos e nas úlceras, devido ao aumento do suprimento sanguíneo com subsequente aumento da imunidade local do tecido irradiado por ativação da fagocitose e da ação proteolítica. Como contra-indicação do uso do Laser os autores relatam nos casos de tumores malignos, exposição da retina, exposição do abdômen durante a gravidez e áreas de gônadas e que outras contra-indicações presentes na literatura podem ser consideradas incorretas.

Diante da observação de alguns autores (TATEVOSSIAN e GOULD, 1976; SMITH e GEEGAN, 1991) que chamam a atenção para os fatores que influenciam na terapêutica periodontal local como a presença do fluído gengival, sangue, saliva dentre outros, 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 fluído 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 µmg/mL e 50 µmg/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 µmg/ml de azul de metileno com dose de 10 J/cm². Os autores concluíram o estudo relatando que a terapia fotodinâmica tem seu efeito afetado

negativamente pela presença de sangue e fluído 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.

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

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 W 50, 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.

Chan e Lai, (2003) com o objetivo de avaliarem 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 intermedia*, *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/cm² e 6,4 J/cm². Já o Laser de diodo depositou uma densidade de energia

de 10,6 J/cm² e 21,2 J/cm². 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/cm², 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/cm², 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.

GAD et al. (2004) relatam em seus estudos que a emergente resistência antimicrobiana entre bactérias patogênicas, tem levado muitos pesquisadores a buscar alternativas para a substituição das terapias antimicrobianas por outras 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/cm² 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.

Em 2004 Fontana et al, avaliaram a aplicação do laser de diodo com comprimento de onda de 810nm com potências variando entre 400 a 1200 mW para a redução bacteriana no tratamento periodontal em ratos Wistar. Dois tipos de bactérias foram inoculadas em cada animal. Amostras microbiológicas foram coletadas antes e logo após a irradiação com laser. As potências utilizadas foram 400, 600, 800, 1000 e 1200 mW. Em cada grupo de laser foram utilizados oito ratos, totalizando quarenta animais. As contagens bacterianas no início e no final dos tratamentos revelaram uma eliminação considerável, especialmente de *Prevotella sp*, *Streptococcus beta-hemolítico*, *Fusobacterium sp* e *Pseudomonas sp*. Os resultados deste estudo indicaram que o laser pode constituir-se em um dispositivo alternativo aos sistemas infravermelhos tradicionais para a redução bacteriana, com algumas vantagens quanto aos fatores econômicos.

Em 2005, Sigusch et al. testaram a terapia fotodinâmica com dois fotossensibilizadores, clorine e6 e BLC1010, em um experimento com cães. Os animais foram infectados com *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum* nas áreas subgingivais. Após a inoculação das bactérias foram observados sinais clínicos de inflamação com sangramento à sondagem. Foi realizado monitoramento microbiológico antes e após os tratamentos. O laser utilizado foi o laser de diodo com comprimento de onda de 662 nm e potência de 0,5 W. Os resultados mostraram que a terapia fotodinâmica com qualquer um dos corantes foi efetiva na eliminação dos sinais clínicos da inflamação, comparado aos grupos controle (laser somente e nenhum tratamento). Além disso, a terapia fotodinâmica com o clorine e6 causou uma redução significativa de *Porphyromonas gingivalis*, enquanto que nos controles essa redução não foi observada. Este estudo demonstrou que a terapia fotodinâmica com os fotossensibilizadores estudados foi eficaz na redução dos sinais clínicos da doença periodontal e na eliminação de *Porphyromonas gingivalis*.

Com o objetivo de estudar do ponto de vista radiográfico, o efeito da terapia fotodinâmica na evolução da doença periodontal induzida em ratos, Almeida et al. (2006), induziu a doença periodontal em 120 ratos, através da instalação de ligaduras no primeiro molar inferior. Os animais foram divididos em quatro grupos que receberam os seguintes tratamentos: Grupo 1 - os ratos não receberam nenhum tratamento, apenas a presença da ligadura; Grupo 2 - receberam tratamento com droga fotossensibilizadora (azul de metileno); Grupo 3 - obtiveram tratamento com laser em baixa intensidade (LLLT) e o Grupo 4 - foram tratados com droga fotossensibilizadora e LLLT. Nos grupos 3 e 4, após dois dias da indução da doença periodontal, utilizou-se na porção mesial do primeiro molar o laser de AsGaAI (685nm) em modo contato, pontual por 120 segundos com fluência de energia de 4,5 J/cm². Após cinco, 15 e 30 dias de indução, os animais foram sacrificados e as mandíbulas coletadas para análise radiográfica da perda óssea alveolar, na região mesial dos primeiros molares. As mandíbulas foram radiografadas, digitalizadas e analisadas por um software de análise de imagens. A análise radiográfica mostrou diferença estatisticamente significativa no grupo 4 quando comparado com o grupo 1, com menor perda óssea alveolar no grupo 4, nos períodos de cinco e 15 dias pós-operatórios. No período de 30 dias não ocorreu diferença significativa entre os grupos analisados. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica promoveu uma menor perda óssea em ratos, principalmente nos períodos iniciais, podendo esta ser uma nova opção terapêutica complementar para tratamento da doença periodontal.

Em 2006, Shibli et al. com o objetivo de avaliar clínica e histomorfometricamente os resultados da terapia fotodinâmica coadjuvante a regeneração óssea guiada no tratamento de periimplantites em cinco cães utilizaram 40 implantes dentais com quatro diferentes superfícies: 10 de titânio puro, 10 de titânio tratadas com plasma, 10 tratadas com ácido e o restante jateadas com óxido. Foi realizada a indução de periimplantites através de ligaduras e após três meses os animais foram submetidos ao tratamento cirúrgico onde metade da boca foi tratada por debridamento mecânico e regeneração óssea guiada (lado controle), enquanto que a outra parte (lado teste) recebeu o mesmo tratamento dos controles tendo a associação da terapia fotodinâmica. O laser utilizado foi de diodo GaAlAs, com comprimento

de onda de 830nm, potência de 50mWe tempo 80s (4J /cm²), tendo o azul de toluidina como agente fotossensibilizador (100µg/ml). Os animais foram sacrificados 5 meses após os tratamentos. Os lados controle apresentaram uma exposição mais precoce das membranas em todas as superfícies, enquanto que os lados teste apresentaram uma maior altura óssea. A re-osseointegração variou entre 41,9% para a superfície de titânio pura e 31,19% para a superfície espreitada com plasma nos sítios teste, não havendo diferenças entre as superfícies. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica associada à regeneração óssea guiada permitiu uma melhor re-osseointegração nas áreas adjacentes aos defeitos periimplantares.

Com o objetivo de testar a capacidade do verde de malaquita combinado ao laser vermelho de baixa potência, em inativar o *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Prates et al. (2007) realizaram um trabalho expondo a cultura das referidas bactérias 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/cm²; e grupo 3, aplicação do corante seguido do laser por 5 min, totalizando uma energia de 9 J/cm². 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.

Em 2007 Almeida et al. avaliou 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 GaAlAs, com 685 nm (50 mW, 120 s, 4.5 J/cm²). Todos os grupos foram subdivididos em subgrupos (n=10) e sacrificados nos períodos de 5, 15 e 30 dias pós-operatórios. O estudo radiográfico foi realizado medindo a distância da crista óssea à união cimento-esmalte 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 dia. 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.

Ainda em 2007, Oliveira et al. estudou 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.

Com o objetivo de comparar os efeitos da terapia fotodinâmica com a raspagem e aplainamento corono-radicular no tratamento da doença periodontal, Andersen et al. (2007), tratou trinta e três pacientes diagnosticados com doença periodontal moderada e avançada

de acordo com os seguintes tratamentos: Grupo I, tratados através da PDT; Grupo II, tratados pela raspagem corono-radicular e Grupo III, associação da raspagem com a PDT. Os parâmetros avaliados foram: sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e perda de inserção clínica no período inicial, após três e seis semanas, e durante 12 meses após os tratamentos. Nenhuma diferença foi observada nos parâmetros analisados no período inicial, antes da realização de qualquer tratamento. O sangramento à sondagem diminuiu ao longo do tempo em todos os grupos. Com relação ao ganho de inserção clínica e a diminuição da profundidade de sondagem, pode-se observar que o grupo III apresentou maiores ganhos de inserção clínica e menores profundidades de sondagem de forma significativa comparado a raspagem de forma isolada (Grupo I). O estudo concluiu que a raspagem combinada com a PDT resultou em melhoras significantes nos parâmetros investigados comparados a raspagem isolada.

Referências bibliográficas [®]

ACADEMY REPORT. Position paper: oral features of mucocutaneous disorders. **J Periodontol.**, v. 74, n. 10, p. 1545-56, 2003.

ADRIAENS, P.A.; EDWARDS, C.A.; DE BOEVER, J.A.; LOESCHE, W.J. Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. **J. Periodontol.**, v. 59, n. 8, p. 493-503, 1988.

AGUILAR-NASCIMENTO, J.E.; DA SILVA, L.R.F.; TEIXEIRA, R. L.; DE OLIVEIRA, A.F. Deflazacort e cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. **Rev Ass Med Brasil.**, v. 46, n. 3, p. 218-23, 2000.

ALMEIDA, J. M.; THEODORO, L. H.; BONFANTE, S.; LUIZE, D.S.; MACARINI V. C.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M. J. H.; GARCIA, V.G.; Estudo radiográfico da perda óssea alveolar em ratos tratados pela terapia fotodinâmica. **Revista de Periodontia.**, v. 16, n. 4, p. 96-102, 2006.

ALMEIDA, J.M.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.; OSHIWA, M.; GARCIA, V.G. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J Periodontol.**, v. 78, n. 3, p. 566-75, 2007.

ALMEIDA-LOPES, L.; RIGAU, J.; ZANGARO, R.A.; GUIDUGLI-NETO, J.; JAEGER, M.M. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. **Lasers Surg Med.**, v. 29, n. 2, p. 179-84, 2001.

AL-WATBAN, F.A.; ZHANG, X.Y. Comparison of wound healing process using Argon and Krypton lasers. **J Clin Laser Med Surg.**, v. 15, n. 5, p. 209-151, 1997.

ANDERSEN, R.; LOEBEL, N.; HAMMOND, D.; WILSON, M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. **Clin Dent.**; v. 18, n. 2, p. 34-8, 2007.

ANGELI, A; DORIO, A; SARTORI, M.L.; MASERA R.G.; CEOLONI, B.; PROLO, B.; ROCCA, S.; CHIAPPELLI, F. Interactions between glucocorticoids and cytokines in the bone microenvironment. **Annals of the New York Academy of Sciences.**, v. 966, p. 97-107, 2002.

ANNEROTH, G.; HALL, G.; RYDEN, H.; ZETTERQVIST, L. The effect of low-energy infrared laser radiation on wound healing in rats. **Brit. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 26, n. 1, p. 12-17, Feb. 198.

ARANTES, V.N.; OKAWA, R.Y.; SILVA, A.A.; BARBOSA, A.J.F.; PETROIANU, A. Efeito da metilprednisolona sobre a tensão anastomótica jejunal. **Arq. Gastroenterol.** v. 31, n. 3, p. 97-102, 1994.

ASZODI, A.; PONSKY, J.L. Effects of corticosteroid on the healing of bowel anastomosis. **Am. Surg.**, v. 50, n. 10, p. 546-8, 1984.

AUTIO, P.; OIKARINEN, A.; MELKKO, J.; RISTELI, J.; RISTELI, L. Systemic glucocorticoids decrease the synthesis of type I and type III collagen in human skin in vivo, whereas isotretinoin treatment has little effect. **Br J Dermatol.**, v. 131, n. 5, p. 660-3, 1994.

AZEVEDO, L.H.; EDUARDO, F.P.; MOREIRA, M.S.; EDUARDO, C.P.; MARQUES, M.M. Influence of Different Power Densities of LIL T on Cultured Human Fibroblasts Growth. A pilot study. **Lasers in Medical Sciences.** In press 2006.

BASFORD, J.R. Low energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope, or hokum? **Mayo**

Leandro Araújo Fernandes

Clin Proc., v. 61, n. 8, p. 671-5, 1986.

BAUER, T. W.; HAHN, S.M.; SPITZ, F.R.; KACHUR, A.; GLATSTEIN, E.; FRAKER, D.L. Preliminary report of photodynamic therapy for intraperitoneal sarcomatosis. **Ann. Surg. Onc.**, v. 8, p. 254-259, 2001.

BAVARESCO, L.; BERNARD, A.; BATTASTINI, A. *Glicocorticóides: usos clássicos e emprego no tratamento do câncer. Informa.*, v. 17, n. 1, p. 58-60, 2005.

BEHRENS, B. F.; SHEPARD, N.; MITCHELL, N. Alteration of rabbit articular cartilage intra-articular injections of glucocorticoids. **Journal of Bone And Joint Surgery**, Boston, v. 57-A, n. 1, p. 70-76, 1975.

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.

BEZERRA, M.M.; DE LIMA, V., ALENCAR, V.B.M.; VIEIRA, I.B.; BRITO, G.A.C.; RIBEIRO, R.A. et al. Selective Cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **J Periodontol.**, v. 71, n.6, p. 1009-1014, 2000.

BHATTI, M.; MACROBER, T.A.; MEGHJI, S.; HENDERSON, B.; WILSON, M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. **Photochem Photobiol.**, v. 65, n. 6, p. 1026-1031, 1997.

BONDAN, E. F., LALLO, M. A.; BAZ, E. I., SINHORINI, I.L.; GRAÇA D. L. Estudo ultra-estrutural do processo remielinizante pós-injeção de brometo de etídio no tronco encefálico de ratos imunossuprimidos com dexametasona. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 62, n. 1, p. 131-138, 2004.

BREIVIK, T.; GUNDERSEN, Y.; OSMUNDSEN, H.; FONNUM, F.; OPSTAD, P.K. Neonatal dexamethasone and chronic tianeptine treatment inhibit ligature-induced periodontitis in adult

rats. **J Periodontal Res.**, v. 41, n. 1, p. 23-32, 2006.

BURNS, T.; WILSON, M.; PEARSON, G.J. Killing of cariogenic bacteria by light from a gallium aluminium arsenide diode laser. **J Dent.**, v. 22, n. 5, p. 273-8, 1994.

BYRNES, K.R. et al. Photobiostimulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type II diabetes. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 22, n. 4, p. 281-290, Aug. 2004.

CANALIS, E.; DELANY, A.M. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 966, Jun. , p.73-81, 2002.

CARAZZATO, J.G.; CAMARGO, O.P.; BARROS FILHO, T.E.P.; JUNQUEIRA, B.T.; AZENHA, JR.O.R.; RODRIGUES, C.J. Estudo experimental das alterações histológicas e biomecânicas induzidas pela infiltração local de corticóide e anestésico. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 61-65, 1980.

CAVAGNI, J.; SOLETTI A.C.; GAIO, E.J.; RÖSING, C.K. The effect of dexamethasone in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. **Pesqui Odontol Bras.**, v. 19, n. 4. p. 290-4, 2005.

CAWSON, R.A.; SPECTOR, R.G. **Clinical pharmacology in dentistry** 5. ed. New York: Churchill Livingstone, 1989. p. 183-194.

CÉSAR-NETO, J.B.; BENATTI, B.B.; SALLUM, E.A.; CASATI, M.Z.; NOCITI, F.H. JR. The influence of cigarette smoke inhalation and its cessation on the tooth-supporting alveolar bone: a histometric study in rats. **J Periodontal Res.**, v. 41, n. 2, p. 118-23, 2006.

CHANDLER, G.N.; WRIGHT, V. Deleterious effect of intra-articular hydrocortisone. **Lancet**, London, v. 27, n. 2, p. 661-663, 1958.

CHANDLER, G.N.; WRIGHT, V., HARTFALL, S.J. Intra-articular therapy in rheumatoid arthritis. Comparison of hydrocortisone tertiary butyl acetate and hydrocortisone acetate. **Lancet**, London, v.2, p.659-661, 1958.

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.

CORBETT, C.E. **Farmacodinâmica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 1115p.

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, 1996.

DOBSON, J.; WILSON, M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. **Arch Oral Biol, Oxford**, v. 37, n. 11, p. 883-7, Nov. 1992.

DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; BERNHART, T.; MAILATH-POKORNY, G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. **Clin Oral Implants Res.**, v. 12, p. 104-8, 2001.

DOUGHERTY, T.J. An update on photodynamic therapy applications. **J. Clin Laser Med and Surg.**, v. 20, n. 1, p. 3-7, 2002.

DURMUS, M.; KARAASLAN, E.; OZTURK, E.; GULEC, M.; IRAZ, M.; EDALI, N.,; ERSOY, M. O. The effects of single-dose dexamethasone on wound healing in rats. **Anesth Analg.** v. 97, n. 5, p. 1377-80, 2003.

EHRLICH, H. P.; HUNT, T. K. The effects of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wounds. **Ann Surg.**, v. 167, n. 3, p. 324-8, 1968.

EROGLU, L.; CAGLAYAN, B. Anxiolytic and antidepressant properties of methylene blue in animal models. **Pharmacol. Res.**, v. 36, n. 5, p. 381-385, 1997.

FÄSSLER, R.; SASAKI, T.; TIMPL, R.; CHU, M. L.; WERNER, S. Differential regulation of fibulin, tenascin-C, and nidogen expression during wound healing normal and glucocorticoid-treated mice. **Exp Cell Res.**, v. 222, n. 1, p.111-6, 1996.

FIJAN, S.; HONINGSMANN, H.; ORTEL, B. Photodynamic therapy of epithelial skin tumours using delta-aminolevulinic acid and desferrioxamine. **Br J Dermatol.**, v. 133, p. 282-8, 1995.

FONTANA, C.R. ; KURACHI, C.; MENDONÇA, C.R.; BAGNATO, V.S. Microbial reduction in periodontal pockets under exposition of a medium power diode laser: an experimental study in rats. **Lasers Surg Med.**, v. 35, n. 4, p. 263-8, 2004.

FERREIRA, J. P. R. **Estudo "in vitro" da ação do laser em baixa intensidade, associado ou não a drogas fotossensibilizadoras, sobre a viabilidade de microorganismos bucais.** Marília, 2001. 58p. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas) - Faculdade de Ciências Odontológicas, Universidade de Marília.

GAD, F.; ZAHRA, T.; HASAN, T.; HAMBLIN, M.R. Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 48, n. 6, p. 2173-2178, 2004.

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.

Leandro Araújo Fernandes

GARCIA, V. G.; PINTO, R. S.; PACCA, C.A.D.; TOSCANO, M.P. O. ; MANTOVANI, A.V.R. THEODORO, L.H. Estudo in vitro da ação dos Raios Laser de bioestimulação em amostras de Streptococcus e Staphylococcus. **Rev Fac Odont Lins.**, v. 10, n. 2, p. 16-22, 1997.

GOLDHABER, P.; RABADJIJA, L.; BEYER, W.R.; KORNHAUSER, A. Bone resorption in tissue culture and its relevance to periodontal disease. **J Am Dent Ass.**, v. 87, n. 10 (Special Issue), p. 1027-1033, 1973.

GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2003, p. 422- 424.

GOODSON, J. M. Pharmacokinetic principles controlling efficacy of oral therapy. **J Dent Res**; v. 68, p. 625-632, 1989.

GREENSPAN, S. F.; STREWLER, J. G. **Endocrinologia Básica & Clínica**. 5ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000 : 243-257.

HAAS, R., DORTBUDAK, O., MENSENDORFF-POUILLY, N., MAILATH, G. Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser an in vitro study. **Clin Oral Impl Res.**, v. 8, p. 249-254, 1997.

HALL, G.; ANNEROTH, G.; SCHENNINGS, T.; ZETTERQVIST, L.; RYDÉN, H. Effect of low level energy laser irradiation on wound healing: an experimental study in rats. **Swed. Dent.**, Jönköping, v. 18, n. 1/2, p. 29-34, 1994.

HAMBLIN, M.R.; O'DONNELL, D. A.; MURTHY, N.; CONTAG, C. H.; HASAN, T. Rapid control of wound infections by targeted photodynamic therapy monitored by in vivo bioluminescence imaging. **Photochem Photobiol.**, v. 75, n. 1, p.51-57. 2002.

HARRIS SC. The use of adrenal steroids in dental practice. **Dent. Clin. North Am Philadelphia.**,v. 14, n. 4, p. 845-854, 1970.

HEASMAN, P.A.; SEYMOUR, R.A. An association between long-term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy and the severity of periodontal disease. **J Clin Periodontol.** v. 17, n. 9, p. 654-658, 1990.

HEASMAN, P.A.; BENN, D.K.; KELLY, P.J.; SEYMOUR, R.A.; AITKEN, D. The use of topical flurbiprofen as an adjunct to non-surgical management of periodontal disease. **J Clin Periodontol.**, v. 20, n. 6, p. 457-464, 1993a.

HEASMAN, P.A.; OFFENBACHER, S.; COLLINS, J.G.; EDWARDS, G.; SEYMOUR, R.A. Flurbiprofen in the prevention and treatment of experimental gingivitis. **J Clin Periodontol.**, v. 20, n.10, p. 732-738. 1993b.

HERFINDAL, E. T., GOURLEY, D.R., HART, L.L. **Clinical pharmacy and therapeutics** Baltimore: Williams & Wilkins 1988 : 114-136.

HIGUCHI, M.; MASUDA, T.; SUSUDA, K.; ISHII, S.; ABE, K. Ultrastructure of the articular cartilage after systemic administration of hydrocortisone in the rabbit: an electron microscopic study. **Clin Orthop. Oct**, n. 152, p. 296-302, 1980.

HOLZHAUSEN M. **Efeito do Celecoxib sobre o desenvolvimento de doença periodontal induzida em ratos** [Dissertação de Mestrado]. Araraquara/SP: UNESP, 2002.

HOURELD, N.; ABRAHAMSE, H. In vitro exposure of wounded diabetic fibroblast cells to a helium-neon laser at 5 and 16 J/cm². **Photomed Laser Surg.**, v.25, n. 2, p.78-84, 2007.

HUANG, W. H.; ZHENG, M.H. Steroid hormones and bone. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 14, n. 4, p. 1257-1268, 1999.

HUNTER, J.; LEONARD, L.; WILSON, R.; SNIDER, G.; DIXON, J. Effects of low energy laser on wound healing in a porcine model. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 3, n. 4, p. 285-290, 1984.

IRVIN, T.T.; GOLIGHER, J.C.; A etiology of disruption of intestinal anastomoses. **Br J Surg.**, v. 60, n .6, p.457-60, 1973.

ITANI, T.; KANAI, K.; WATANABE, J.; OGAWA, R.; KANAMURA, S. Quantitative analysis of rough endoplasmic reticulum in chondrocytes of articular and tracheal cartilage of rabbits following the systemic administration of hydrocortisone. **Journal Anatomy**, London, v. 181, n. 2, p. 357-363, 1992.

JEFFCOAT, M.K.; WILLIAMS, W.J.; WECHTER, H.G.; JOHNSON, H.G.; KAPLAN, J.S.; GANDRUP, J.S. et al. Flurbiprofen treatment of periodontal disease in beagles. **J Periodontal Res.**, v. 21, n. 6, p. 624-633, 1986.

JEFFCOAT, M.K.; REDDY, M.S.; HAIGH, S. A comparison of topical ketorolac, systemic flurbiprofen and placebo for the inhibition of bone loss in adult periodontitis. **J Periodontol.**, v. 66, n. 5, p. 329-338, 1995.

JOHNSON, I.H. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. **J Periodont Res.**, v. 10, n. 6, p. 332-45, 1975.

JONGSMA, F.H.; VD BOGAARD, A.E.; VAN GEMERT, M.J.; HULSBERG, G.E.N.; HENNING, J.P. In closure of open skin wound in rats accelerated by argon exposure? **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 3, n. 1, p. 75-80, 1983.

KALDAHL, W.B.; KALKWARF, K.L.; PATIL, K.D. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. **J Periodontol.**, v. 64, n. 4, p. 243-53, 1993.

KAMMA, J.J.; SLOTS, J. Herpes virus bacterial interaction in aggressive periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v.30, p.420-426, 2003.

KANA, J.S.; HUTSCHENREITER, G.; HAINA, D.; WAIDELICH, W. 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, 1981.

KARU, T.I. Photobiology of low - power laser effects. **Health Phys.**, v. 56, n. 5, p. 691-704, 1989.

KENNEDY, J.C.Ç.; POTTIER, R.H.; PROSS, D.C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. **J Photochem Photobiol B.**, v. 6, n. 1-2, p. 143-8, 1990.

KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. **J Periodontol.**, v. 62, n. 1, p. 59-73, 1991.

KLEINFELDER, J.W.; MULLER, R.F.; LANGE, D.E., Antibiotic susceptibility of putative periodontal pathogens in advanced periodontitis patients. **J. Clin.Periodontol**, v. 26, p. 347-351, 1999.

KLOTH, L.C.; MCCULLOCH, J.M. The inflammatory response to wounding. In MCCULLOCH, J.C.; KLOTH, L.C.; FEEDAR, J.A. (eds) **Wound healing alternatives in management**, ed 2. Philadelphia. C.P.R.F.A. Company, 1998, pp 3-15.

KÖMERIK, N.; CURNOW, A.; MACROBERT, A.J.; HOPPER, C.; SPEIGHT, P.M.; WILSON, M. Fluorescence biodistribution and photosensitizing activity of toluidina blue O on rat buccal mucosa. **Laser Med Sci.**, v. 17, p. 86-92, 2002.

KÖMERIK, N.; In vitro killing of Porphyromonas gingivalis by Toluidine blue mediated photosensitization in an animal model. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 47, n. 3, p. 932-940, 2003.

KUEHL, F.A.; EGAN, R.W. Prostaglandin, Arachidonic Acid and Inflammation. **Science.**, v. 210, n. 28, p. 978-984, 1980.

LABELLE, R.E.; SCHAFFER, E. M. The effects of cortisone and induced local factors on the periodontium of the albino rat. **J. Periodontol.**, Chicago., v. 37, n. 6, p.483-490, 1966.

LALLO, M. A.; DOS SANTOS, M. J.; BONDAN, E.F. Infecção experimental pelo Encephalitozoon cuniculi em camundongos imunossuprimidos com dexametasona. **Rev Saúde Pública.**, v. 36, n. 5, p.621-6, 2002.

LASFARGUES, J.J.; SAFFAR, J.L. Effect of indomethacin on bone destruction during experimental periodontal disease in the hamster. **J Periodontal Res.** v.18, n. 1, p.110-117, 1983.

LECH, O.; SEVERO, A.L.; SILVA, L.H.P.; MARCOLAN, A.M.; LÜTKEMEYER, E.; KIM, J.H. Efeito do uso de corticóide em tendões previamente traumatizados: estudo experimental **Rev Bras Ortop.**, v. 31, n. 3 ,p.187-192, 1996.

LEIBOVICH, S.J.; ROSS, R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. **Am J Pathol.**, v. 78, n. 1 ,p. 71-100, 1975.

LI, K.L., VOGEL, R., JEFFCOAT, M.K.; ALFANO, M.C.; SMITH, M.A.; COLLINS JG et al. The effect of ketoprofen creams on periodontal disease in rhesus monkeys. **J Periodontol Res.**, v. 31, n. 8 ,p. 525-532, 1996.

LIPARI, W.A.; BLAKE, L.C.; ZIPKIN, I. Preferential response of the periodontal apparatus and the epiphyseal plate to hydrocortisone and fluoride in the rat. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 45, n. 12, p. 879-889, Dec. 1974.

LISTGARTEN, M. A. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. **J. Periodontol**, v. 46, p. 677-680, 1975.

LOPES JR. **Reparação de feridas de extração dental, infectadas, tratadas com droga fotossensibilizadora associada ou não ao laser de baixa intensidade.** Araçatuba, 2000. 98p. Dissertação (Mestrado em Odontologia - Área de Cirurgia e Traumatologia Buço-Maxilo-Facial) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Câmpus de Araçatuba.

LUKERT, B.P.; RAISZ, L.G. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management. **Ann Intern Med.**, v. 112, n. 5, p.352-64, 1990.

MACARIMI, V.C. **Influência do laser em baixa intensidade (660 nm) no processo de reparo de feridas cutâneas provocadas em ratos tratados com nicotina: estudo histológico.** 2004. 120f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2004.

MARTINS, J.R. A.; GUIMARÃES, A.S.; FERREIRA, A.L. Efeitos dos corticosteróides na cicatrização de anastomoses intestinais. **Acta Cir Bras.**, v. 7, n. 1, p. 28-30, 1992.

MATIA, J.I.; BISSADA, N.F.; MAYBURY, J.E.; RICCHETTI, P. Efficiency of scaling of the molar furcation area with and without surgical access. **Int J Periodontics Restorative Dent.**, v. 6, n. 6, p. 24-35, 1986.

MCCAUGHAN, J.J.; BETHEL, B.H.; JOHNSTON, T.; JANSSEN, W. Effect of low-dose argon irradiation on rate of wound closure. **Lasers in Surg. Med.**, New York, v. 5, n. 6, p. 607-614, 1985.

MACROBERT, A.J.; BOWN, S.G.; PHILLIPS, D. What are the ideal properties of a photosensitizer? In: **Photosensitizing Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use.** Chichester: Wiley, v. 146, p. 4-16, 1989.

MAISCH, T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? **Laser Med Sci.**, v. 22, p. 83-91, 2007.

MALIK, Z.; HANANIA, J.; NITZAN, Z. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins - an alternative approach to antimicrobial drugs. **J Photochem Photobiol B.**, v. 5, n. 3- 4, p. 281-93, 1990.

MARQUES, M.M.; PEREIRA, N.A.; FUJIHARA, N.A.; NOGUEIRA, F.N. EDUARDO, C.P. Effect

of low power laser irradiation on protein synthesis and ultrastructure of human gingival fibroblasts. **Lasers Surg Méd.**, v. 34, n. 3, p. 260-5, 2004.

MATEVSKI, D.; WEERSINK, R.; TENENBAUM, H.C.; WILSON, B.; ELLEN, R.P.; LÉPINE, G. Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. **J. Periodont. Res.**, v. 38, p. 428-435, 2003.

MEDRADO, A.R.; PUGLIESE, L.S.; REIS, S.R.; ANDRADE, Z.A. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 32, n. 3, p. 239-244, 2003.

MENDEZ, T.M.; PINHEIRO, A.L.; PACHECO, M.T.; NASCIMENTO, P.M.; RAMALHO, L.M. Dose and wavelenght of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v. 22, n. 1, p. 19-25, Feb. 2004.

MESTER, E.; SPIRY, T.; SZENDE, B.; TOTA, J.G. Effect of laser rays on wound healing. **Am. J. Surg.**, New York, v. 122, n. 4, p. 532-535, Oct. 1971.

MESTER, E. et al. The stimulating effect of low power laser rays on biological systems. **Laser Rev.**, v. 1, p. 3, 1968.

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.

MESTER, S.; JASZSAGI-NAGY, E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen biosynthesis. **Stud. Biophys.**, v. 35, p. 227-230, 1973.

METZGER, Z.; KLEIN, H.; KLEIN, A.; TAGGER, M. Periapical lesion development in rats inhibited by dexamethasone. **Endod.**, v. 28, n. 9, p. 643-5, 2002.

MIGLIORATI, C.; MASSUMOTO, C.; EDUARDO, F.P.; MÜLLER, K.P.; CARRIERI, T.; HAYPEK, P.; EDUARDO, C.P. Low-energy laser therapy in oral mucositis. **J Oral Laser Applications**, v. 1, p. 97-101, 2001.

NASSAR, C. A.; NASSAR, P.O.; INAGAKI, N.S.; GIRELI JÚNIOR, C. Efeito de antiinflamatório no desenvolvimento da doença periodontal induzida: avaliação radiográfica em ratos. **Revista de Odontologia da Unesp**, v. 32, n. 2, p. 125-30, 2003.

NASSAR, C.A.; NASSAR, P.O.; NASSAR, P.M.; SPOLIDORIO, L.C. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents bone resorption. **Braz Oral Res.**, v. 19, n. 1, p. 36-40, 2005.

NAVRATIL, L.; KYMPLOVA, J. Contraindications in noninvasive laser therapy: truth and fiction. **J Clin Laser Med Surg.**, v. 20, n. 6, p. 341-343, 2002.

NIKAIDO, H. Outer membrane barrier as a mechanism of anti-microbial resistance. **Antimicrob Agent Chemother.**, v. 33, n. 11, p. 1831-1836, 1989.

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. Araçatuba, 2005, 153f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

NUKI, K.; SOSKOLNE, W.A.; RAISZ, R.G.; KORNMAN, K.S.; ALANDER, C. Bone resorbing activity of gingival from beagle dogs following metronidazole and indomethacin therapy. **J Periodontol Res.**, v. 16, n. 2, p. 205-212, 1981.

NUSSBAUM, E.; LILGE, L.; MAZZULLI, T. Effects of 630, 660, 810 and 905 nm laser irradiation delivering radiant exposure of 1-50 J/cm² on three species of bacteria in vitro. **J. Clin Laser Med Surg**, v. 20, n. 6, p. 325-333, 2002.

NYMAN, S.; SCHROEDER, H.E.; LINDHE, J. Suppression of Inflammation and bone resorption by indomethacin during experimental periodontitis in dogs. **J Periodontol.**, v. 50, n. 9, p. 450-461, 1979.

OCHSNER, M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. **J Photochem Photobiol B.**, v. 39, n. 1, p. 1-18, 1997.

OFFENBACHER, S.; BRASWELL, L.D.; LOSS, A.S.; JOHNSON, H.G.; HALL, C.M.; MCCLURE, H. et al. Effects of flurbiprofen on the progression of periodontitis in *Macaca mulatta*. **J Periodontol Res.**, v. 22, n. 6, p. 473-481, 1987.

OFFENBACHER, S.; WILLIAMS, R.C.; JEFFCOAT, M.K.; HOWELL, T.H.; ODLE, B.M., SMITH, M.A. et al. Effects of NSAIDs on beagle crevicular cyclooxygenase metabolites and periodontal bone loss. **J Periodontal Res.**, v. 27, n. 3, p. 207-213, 1992.

OLERUD, J.E.; ODLAND, G.F.; BURGESS, E.M.; WYSS, C.R.; FISHER, L.D.; MATSEN, F.A. A model for the study of wounds in normal elderly adults and patients with peripheral vascular disease or diabetes mellitus. **J Surg Res.**, v. 59, n. 3, p. 349-360, 1995.

OLIVEIRA, R.R.; SCHWARTZ-FILHO, H.O.; NOVAES, A.B.; TABA, M. 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.

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.

OKAZAKI, RAO, S.; ITO, Y.; TATEISHI, T. Corrosion resistance, mechanical properties, corrosion fatigue strength and cytocompatibility of new Ti alloys without Al and V. **Biomaterials.**, v. 19, n. 13, p. 1197-1215, 1998.

PAGE, R.C.; SCHROEDER, H.E. Periodontitis in man and other animals. A comparative review. **Basel: Karger**, p. 71-106, 1982.

PAPACRISTOU, G.; ANAGNOSTOU, S.; KATSORHIS, T. The effect of intraarticular hydrocortisone injection on the articular cartilage of rabbits. **Acta Orthopaedica Scandinavica, Copenhagen**, v. 275, Oct, p. 132-134, 1997.

PEREIRA, A.N.; EDUARDO, C.P.; MATSON, E.; MARQUES, MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. **Lasers Surg Med.**, v. 31, n. 4, p. 263-7, 2002.

PERRIN, D. ; JOLIVALD, J.R. ; TRIKI, H. ; GARBARG-CHENON, A. ; LAMOTTE DINCAMPS, B.; LEFEVRE, B. ; et al. Effects of laser irradiation on latency of herpes simplex virus in a mouse model. **Path Biol.**, v. 45, n. 1, p. 24-7, 1997.

PESSOA, E.S.; MELHADO, R.M.; THEODORO, L.H.; GARCIA, V.G. A histologic assessment of the influence of low-intensity laser therapy on wound healing in steroid-treated animals. **Photomed. Laser Surg.**, New York, v. 22, n. 3, p. 199-204, Jun. 2004.

PETERSEN, S.L.; BOTES, C.; OLIVIER, A.; GUTHRIE, A.J. The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses. **Equine Vet. J.**, London, v. 31, n. 3, p. 228-231, 1999.

PIERCE, A.M.; LINDSKOG, S. Early responses by osteoclasts in vivo and dentinoclasts in vitro to corticosteroids **J Submicrosc Cytol Pathol.** v. 21, n. 3, p. 501-8, 1989.

PODBIELSKI, A; RAISS, R. Dose related effects of dexamethasone treatment on the ultrastructure of articular cartilage in rats. **Agents and Actions**, Basel, v. 17, p. 3-4, 1985.

PRATES, R.A.; YAMADA, A.M.; SUZUKI, L.C.; EIKO HASHIMOTO, M.C.; CAI, S.; GOUW-SOARES, S.; GOMES, L.; RIBEIRO, M.S. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **J Photochem Photobiol B.**, v. 86, n. 1, p. 70-6, 2007.

PUGLIESE, L.S.; MEDRADO, A.P.; REIS, S.R.; ANDRADE, Z.D.E. A. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 307-313, 2003.

RAAB, O. **Z Biol.** v. 39, p. 524, 1900.

RAGAN, C. et al. Effect of cortisone on production of granulation tissue in the rabbit. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, Malden, v. 72, n. 3, p. 718-721, Dec. 1949.

RAMS, T.E.; SLOTS, J. Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. **Periodontol 2000.**, v. 10, p. 139-159, 1996.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p.470-478, 2003.

REDDY, G.K. Comparison of the photostimulatory effects of visible He-Ne and infrared Ga-As lasers on healing impaired diabetic rat wounds. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 33, n. 5, p. 344-351, 2003.

REENSTRA, W.R.; VEVES, A.; ORLOW, D. et al. Decrease proliferation and cellular signaling in primary dermal fibroblasts derived from diabetics versus non diabetic sibling controls. **Acad Emerg. Med**, v. 8, p. 519, 2001.

RIBEIRO, M.S. **Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: Efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele.** (Tese Doutorado), São Paulo: Instituto de Pesquisa Nuclear, IPEN/USP; 2000.

RIBEIRO, M. S.; ZECELL, D. M. Laser de baixa intensidade. In: Gutknecht, N.; EDUARDO, C. P. **A Odontologia e o Laser**. 1a ed. São Paulo: Quintessence ed. Ltda, 2004, v. 1, cap. 5, p. 217-240.

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.

ROSENBERG, D. ; NASSER, A. ; BEHMER, O.A. et al. Ação da betametasona nas anastomoses intestinais e dois planos de sutura com diferentes materiais. **Rev Paul Méd.**, v. 87, p. 98-106, 1976.

ROSSI JÚNIOR, R. **A influência dos corticosteróides no recrutamento e atividade fagocitária de macrófagos inflamatórios.** 1984. 38 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.

ROSTENBERG A. Clinical evaluation of flurandrenolone, a new steroid in dermatological practice. **J. New Drugs**, New York 1961; 1: 118-121.

RUBENSTEIN, E.B. ; PETERSON, D.E.; SCHUBERT, M.; KEEFE, D.; MCGUIRE, D.; EPSTEIN, J.; et al. Clinical Practice Guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. **Cancer Supplement.**, v. 100, n. 9, p .2026-46,2004.

SAAD, L.J.; SWENSON, H.M. Corticosteroid and periodontal packs. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 36, n. 5, p. 407-412, Sept./Oct., 1965.

SAITO, S.; NGAN, P.; ROSOL, T.; SAITO, M.; SHIMIZU, H.; SHINJO, N.; SHANFELD, J.; DAVIDOVITCH, Z. Involvement of PGE synthesis in the effect of intermittent pressure and interleukin-1 beta on bone resorption. **J Dent Res.**, v. 70, n. 1, p.27-33, 1991.

SALLAY, K.; SANAVI, F.; RING, I.; PHAM, P.; BEHLING, U.H.; NOWOTNY, A. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **J Periodontol Res.**, v. 17. n. 3, p. 363-274, 1982.

SALMELA, K. Comparison of the effects of methylprednisolone and hydrocortisone on granulation tissue development: a experimental study in rat. **Scand J Plast Reconstr Surg.**, v. 15, n. 2, p.87-91, 1981.

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.

SATTLER, A.M.; SCHOPPET, M.; SCHAEFER, J.R.; HOF- BAUER, L.C. Novel aspects on RANK ligand and osteoprotegrin in osteoporosis and vascular disease. **Calcif Tissue Int.**, v. 74, n. 1, p. 103-106, 2004.

SEYMOUR, R.A.; HEASMAN, P.A. Drugs and the periodontium. **J Clin Periodontol.** v. 15, n. 1, p. 1-16, 1988.

SHIBLI, J.A.; MARTINS, M.C.; THEODORO, L.H.; LOTUFO, R.F.; GARCIA, V.G.; MARCANTONIO, E.J. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. **J. Oral Science**1, p. 17-23, 2003.

SHIBLI, J.A.; MARTINS, M.C.; RIBEIRO, F.S.; GARCIA, V.G.; NOCITI, F.H.; MARCANTONIO, E. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. **Clin Oral Implants Res.** v. 17, n. 3, p. 273-81, 2006.

SHIMIZU, N.; YAMAGUCHI, M.; GOSEKI, T.; SHIBATA, Y.; TAKIGUCHI, H.; IWASAWA, T.; ABIKO, Y. Inhibition of prostaglandin E2 and interleukin 1-beta production by low-power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells. **J Dent Res.**, v. 74, n. 7, p. 1382-8, 1995.

SIGUSCH, B.W.; PFITZNER, A; ALBRECHT V, GLOCKMANN E. 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.

SMITH, Q. T.; GEEGAN, S. J. Repeated measurement of cervicular fluid parameters at different sites. **J. Clin. Periodont.**, v. 18, p. 171-176, 1991.

SORIANELLO, E.; SCHILLACI, R.; CHAMSON-REIG, A; LUXLANTOS,V.; IBERTUN, C. Actions of Immunosuppressor Drugs the Development of an Experimental Ovarian Tumor. **Exp Biol Med** (Maywood), v. 227, n. 8, p. 658-664, 2002.

SOUKOS, N.S.; WILSON, M.; BURNS, T.; SPEIGHT, P.M. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated in vitro. **Lasers Surg Med.**, v. 18, n. 3, p.253-9, 1996.

SURINCHAK, J.S.; ALAGO, M.L.; BELLAMY, R.F.; STUCK, B.E.; BELKIN, M. 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.

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.

TAKATA, T.; NIKAI, H.; IJUHN, N.; ITO, H. Penetration and uptake of colloidal goldlabeled concanavalin A in the junctional epithelium of the rat. **J Periodontol.** v. 59, n. 12, p.823-9, 1988.

TATEVOSSIAN, A.; GOULD, C. T. The composition of the aqueous phase in human dental plaque. **Arch. Oral. Biol.**, v. 21, p. 319-323, 1976.

TEICHERT, M.C.; JONES, J.W.; USACHEVA, M.N.; BIEL, M.A. Treatment of oral candidiasis with methylene bluemediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 93, n. 8, p. 155-160, 2002.

TOMASELLI, F. et al. Acute effects of combined photodynamic therapy and hyperbaric oxygenation in lung câncer - a clinical pilot study. **Lasers Surg. Med.**, v.28, p. 399-403, 2001.

TENIUS, F.P.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; IOSHII, S.O. Effects of chronic use of dexamethasone on cutaneous wound healing in rats. **An Bras Dermatol.**, v. 82, n. 2, p.141-9, 2007.

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.

USACHEVA, M.; TEICHERT, M. C.; BIEL, M. A. The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes. **Lasers Surg Med.**, v. 33, n. 5, p. 311-319, 2003.

VAN NOORT, R. Review: Titanium-the implant material of today, **J.Mat. Sci.**, v. 22, n., p.3801-3811, 1987.

VOGEL, R.I.; SCHNEIDER, L.; GOTEINER, D. The effects of a topically-active nonsteroidal anti-inflammatory drug on ligature-induced periodontal disease in the squirrel monkey. **J Clin Periodontol.**, v. 13, n .2, p. 139-144, 1986.

ZIPKIN, I.; BERNICK, S.; MENCZEL, J. A morphological study of the effect of fluoride on the periodontium of the hydrocortisone-treated rat. **Periodontics**, Brookline, v. 20, p. 111-114, May/Jun. 1965.

WAHL, S.M., WAHL LM. Regulation of macrophage collagenase, prostaglandin, and fibroblast-activating-factor production by anti-inflammatory agents: different regulatory mechanisms for tissue injury and repair. **Cell Immunol.** v. 92, n. 2, p.302-12, 1985.

WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 42, p. 13-28, 1998.

WAINWRIGHT, M.; PHOENIX, D.A.; GASKELL, M.; MARSHALL, B. Photobactericidal activity of methylene blue derivatives against vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 44, n. 6, p. 823-825, 1999.

WALKER, M.D.; RUMPF, S.; BAXTER, G.D.; HIRST, D.G.; LOWE, A.S. Effect of low intensity laser irradiation (660 nm) on a radiation-impaired wound healing model in murine skin. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 26, n. 1, p. 41-47, 2000.

WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. **Farmacologia clínica para dentistas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 346p.

WATERHOUSE, J.P. Effects of endocrine secretions of the periodontium and its constituent tissues. In: MELCHER, A.H.; BOLWEN, W.H.: **Biology of the periodontium**. New York: Academic Press, 1969. p. 453-483.

WEAKS-DYBVIG, M.; SANAVI, F.; ZANDER, H.; RIFKIN, B.R. The effect of indomethacin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. **J Periodontol Res.**, v. 17, n. 1, p. 90-100, 1982.

WILLIAMS, R.C.; JEFFCOAT, M.K.; HOWELL, TH.; HALL, C.M.; JOHNSON, H.G.; WECHTER, W.J. et al. Indomethacin or flurbiprofen treatment or periodontitis in beagles: Comparison of effect on bone loss. **J Periodontol Res.**, v. 22, n. 5, p. 403-407, 1987.

WILLIAMS, R.C.; JEFFCOAT, M.K.; HOWELL, T.H.; REDDY, M.S.; JOHNSON, H.G.; HALL, C.M. et al. Ibuprofen: an inhibitor of alveolar bone resorption in beagles. **J Periodontol Res.**, v. 23, n. 4, p. 225-229, 1988.

WILLIAMS, R.C.; JEFFCOAT, M.K.; HOWELL, T.H.; ROLLA, A.; STUBBS, D.; TEOH, K.W. et al. Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. **J Periodontol.**, v. 60, n. 9, p. 485-490, 1989.

WILLIAMS, R.C.; JEFFCOAT, M.K.; WECHTER, W.J.; JOHNSON, H.G.; KAPLAN, M.L.; GOLDHABER, P. Non-steroidal anti-inflammatory drug treatment of periodontitis in beagles. **J Periodontol Res.**, v. 19, n. 6, p. 633-637, 1984.

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.

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.

WILSON, M.; BURNS, T.; PRATTEN, J.; PEARSON, G.J. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. **J Appl Bacteriol.**, v. 78, n. 5, p. 569-74, 1995.

WILSON, M.; DOBSON, J.; SARKAR, S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 8, n. 3, p. 182-7, 1993.

WILSON, M.; DOBSON, J.; HARVEY, W. Sensitization of oral bacteria to killing by low power laser radiation. **Curr Microbiol.**, v. 25, n. 2, p. 77-81, 1992.

WOLFSON, E. M.; SELTZER, S. Reactions of rat connective tissue to some gutta-percha formulations. **J. End.**, v. 1, p. 395-402, 1975.

YEWEY, G.; TIPTON, A.; DUNN, R.; MENARDI, E.M.; MCEVOY, R.M.; JENSEN, J.A. et al. Evaluation of a biodegradable subgingival delivery system for flurbiprofen. **J Dent Res.** v.70, (Spec. Issue), p.324 (abstr.468), 1991.

YILMAZ, S.; KURU, B.; KURU, L.; NOYAN, U.; ARGUN, D.; KADIR, T. Effect of Galium Arsenide Diode Laser on human periodontal disease: a microbical and clinical study, **Lasers Surg. Med.**, v. 30, n. 1, p. 60- 66, 2002.

ZEZELL, D.M., MALDONADO, E.P., RIBEIRO, M.S. **Interação laser - tecidos biológicos. Apostila do Curso de Mestrado em Lasers em Odontologia.** Disciplina LO-03: Interação da Luz Laser com os tecidos biológicos: Aplicações. IPEN. 2000.

ZIPKIN I, BERNICK S, MENCZEL J. A morphological study of the effect of fluoride on the periodontium of the hydrocortisone-treated rat. **Periodontics** rookline 1965; 20: 111-114.

Anexo B

Tabela 3

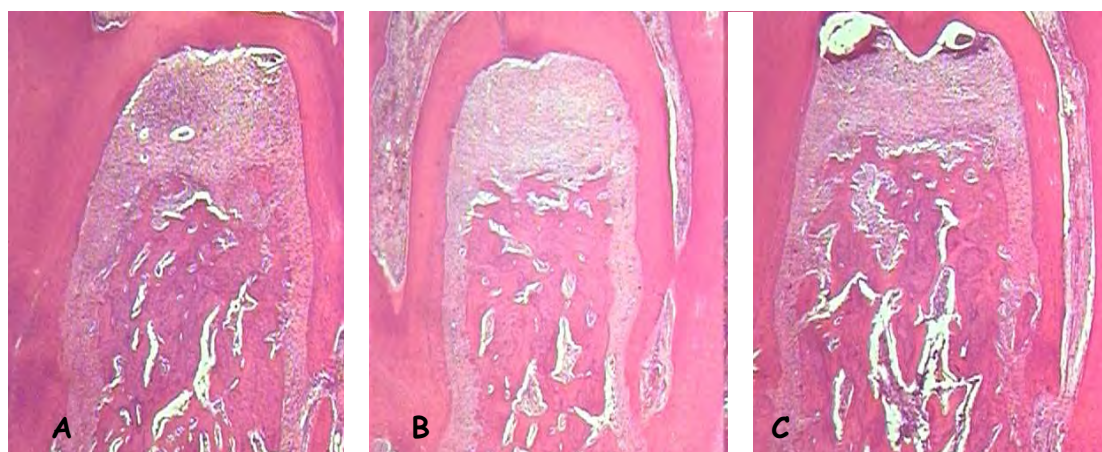
Tabela 3: Peso médio e desvio padrão dos ratos pertencentes aos grupos A e B (g) durante o estudo.

Grupos	Pesos	Início das aplicações subcutâneas	7 dias pós tratmentos locais	15 dias pós tratmentos locais	30 dias pós tratmentos locais
Grupo A		242,66±11,01 ^{Aa}	263,33±2,081 ^{Ab}	283,01±2,16 ^{Ac}	305,05±4,08 ^{Ad}
Grupo B		244,66±9,60 ^{Aa}	218,02±2,16 ^{Bb}	198,03±2,16 ^{Bc}	178,66±1,88 ^{Bd}

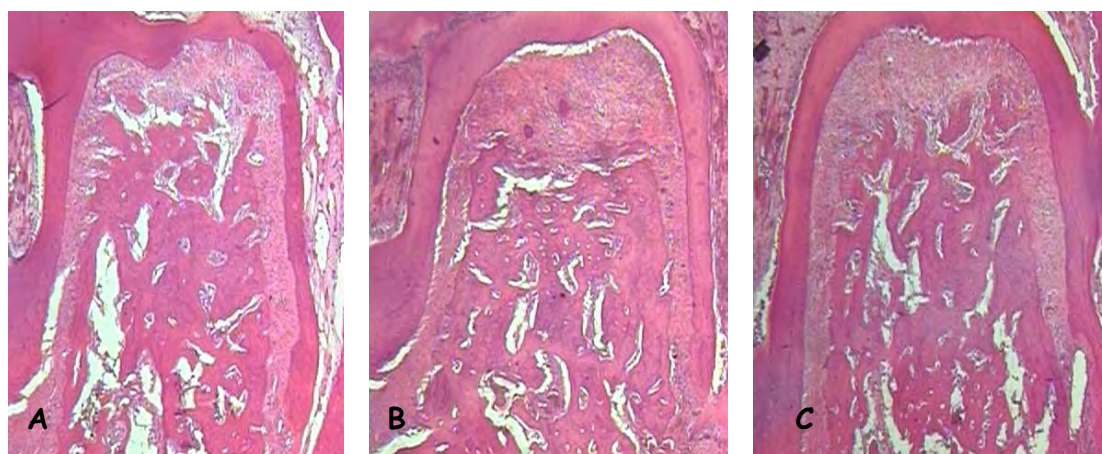
a A b B c C - Médias e desvio padrão seguidas por diferentes letras (letras em coluna maiúsculas e minúsculas nas linhas) são diferentes entre si segundo Anova e Tukey, $p < 0,05$.

Anexo C

Imagens microscópicas demonstrando áreas de PO na região de furca dos primeiros molares inferiores esquerdos de todos os grupos/subgrupos e períodos estudados.

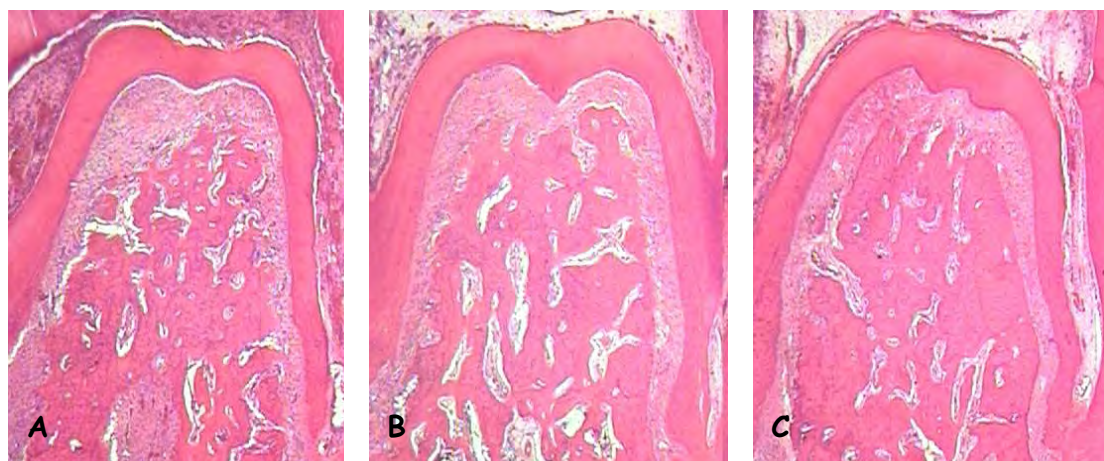


Imagens microscópicas das áreas de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento I (RAR). Períodoa de 7 (Figura A), 15 (Figura B) e 30 dias (Figura C). Coloração H.E. Aumento de 3.2X.

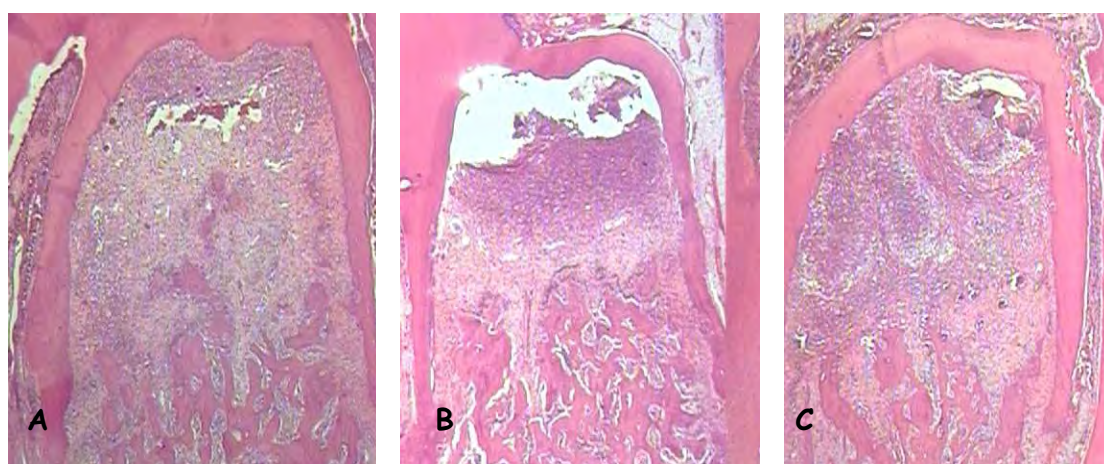


Imagens microscópicas das áreas de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento II (TBO). Períodoa de 7 (Figura A), 15 (Figura B) e 30 dias (Figura C). Coloração H.E. Aumento de 3.2X.

Leandro Araújo Fernandes

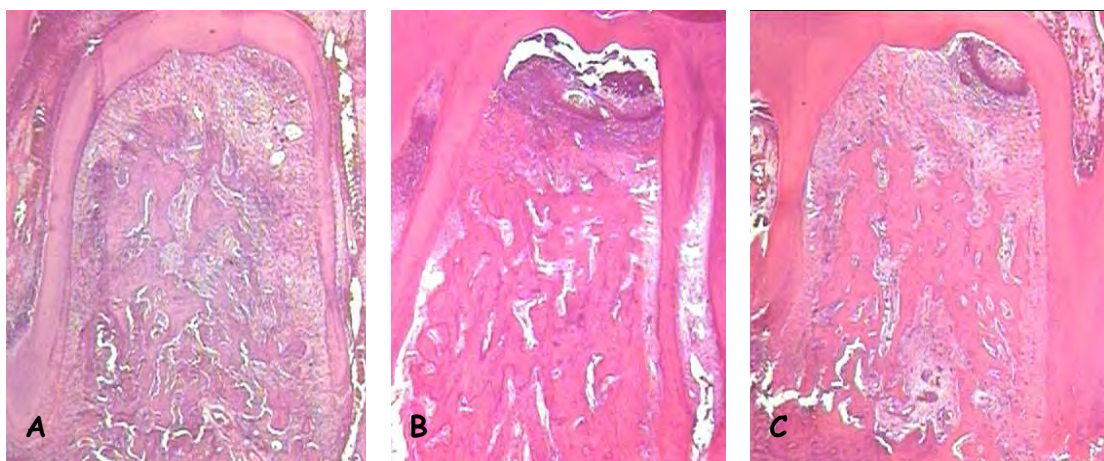


Imagens microscópicas das áreas de furca dos animais do grupo A que receberam o tratamento III (PDT). Período de 7 (Figura A), 15 (Figura B) e 30 dias (Figura C). Coloração H.E. Aumento de 3.2X.

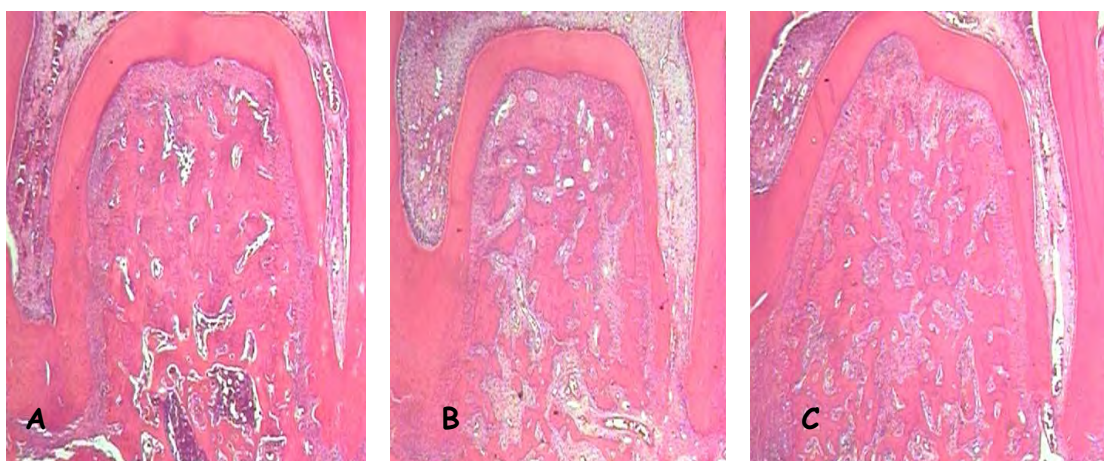


Imagens microscópicas das áreas de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento I (RAR). Período de 7 (Figura A), 15 (Figura B) e 30 dias (Figura C). Coloração H.E. Aumento de 3.2X.

Leandro Araújo Fernandes



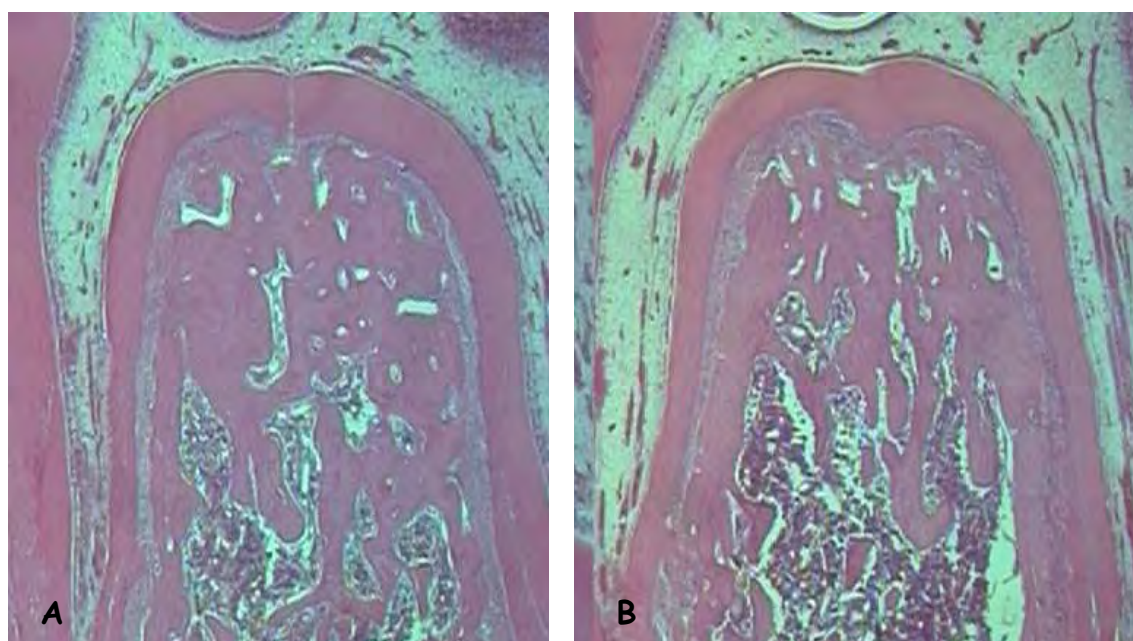
Imagens microscópicas das áreas de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento II (TBO). Período de 7 (Figura A), 15 (Figura B) e 30 dias (Figura C). Coloração H.E. Aumento de 3.2X.



Imagens microscópicas das áreas de furca dos animais do grupo B que receberam o tratamento III (PDT). Período de 7 (Figura A), 15 (Figura B) e 30 dias (Figura C). Coloração H.E. Aumento de 3.2X.

Anexo D

Imagens microscópicas dos primeiros molares inferiores direitos, onde a doença periodontal não foi induzida.



Imagens microscópicas das áreas de furca dos primeiros molares inferiores direitos, onde a doença periodontal não foi induzida. Figura A: Animais do grupo A que receberam aplicação subcutânea de soro fisiológico. Figura B: Animais do grupo B que aplicação subcutânea de fosfato dissódico de dexametasona.

Nota-se ausência de PO e normalidade do espaço do ligamento periodontal.

Período de 30 dias. Coloração H.E.. Aumento de 3.2X.

*Anexo E***Comitê de Ética em Experimentação Animal.**

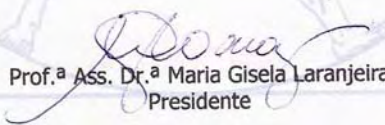
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA NA DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS TRATADOS COM CORTICÓIDE" sob responsabilidade de VALDIR GOUVEIA GARCIA e LEANDRO ARAÚJO FERNANDES está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião ordinária de 28 de abril de 2006, de acordo com o protocolo nº 22/06.

Araçatuba, 28 de abril de 2006.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente

Leandro Araújo Fernandes

Anexo F

Normas de publicação da Revista Journal of Periodontology ***Instructions to Authors***

Effective January 1, 2004

Please note that changes to the Instructions to Authors are set in **boldface type** for easy reference.

CONTENT

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

MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the Journal of Periodontology should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under Manuscript Submission, Preparation, and Format.

ORIGINAL ARTICLES

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

Format

Abstract

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

- * **Background:** Describes the problem being addressed.
- * **Methods:** Describes how the study was performed.

Leandro Araújo Fernandes

* **Results:** Describes the primary results.

* **Conclusions:** Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

Introduction

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

Materials and Methods

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

Results

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

Discussion

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

STATE OF THE ART REVIEWS

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. The review should be based on a critical assessment of the literature, and may include data or examples from the research or clinical experience of the author(s). Authors should discuss clinical relevance and future projections. At-large submissions will be considered, but authors should contact the Editor-in-Chief before developing a manuscript to avoid duplicating a topic already in preparation. Papers should be balanced, literature-based

Leandro Araújo Fernandes

reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Articles should be written at a level instructive to Journal readers. For example, clear definition of abbreviations and a glossary defining terms may be useful for defining highly technical or new terminology. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should not have a financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

Format

Abstract

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less.

Introduction

A question or series of related questions to be addressed are given; rationales for asking these questions and why the question is timely should be explained.

Methods

The method of reviewing the literature should be discussed (e.g., bibliographic indexes and databases used, limits on years covered by the search, languages searched, and other important information regarding the search process should be described).

Body

A sequence of logical subsections that reflect the area being reviewed should be developed. This section should be a critical analysis of the literature, including arguments needed to support the conclusions reached; why certain papers not meeting well-described critical standards, such as randomized clinical trials, were not used as evidence; and what issues remain unresolved and need further study. Evidence tables are often useful in summarizing reviewed literature, and various statistical analyses appropriate to reviewing literature, such as meta-analysis, should be considered.

COMMENTARY

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentary articles should be concise (2,000 to 3,000 words); however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused. Appropriate references should be cited.

Format**Introduction**

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

Body

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated.

Summary

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

Acknowledgments

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

CASE REPORTS

These manuscripts emphasize clinical periodontics and related oral medicine and pathology. Unusual cases illustrating lesions affecting the orofacial structures that may be expected to influence management of periodontal and implant patients could be presented. Case reports should describe: 1) unique cases that may represent a previously undescribed condition; 2) unexpected association of two or more diseases; 3) adverse or unexpected treatment response; or 4) any other clinical observation based upon well-documented cases that provides important new information.

CASE SERIES

These papers report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed case

series may lead to hypotheses about the usefulness of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.

Format

Abstract

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

*Background: Describes the clinical situation being discussed.

*Methods: Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.

*Results: Describes the clinical results.

*Conclusions: Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

Introduction

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

Case Description and Results

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

Discussion

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

INNOVATIONS IN PERIODONTICS

These manuscripts should emphasize methods, such as the application of new technology, materials, and techniques to patient management, and should be illustrated by carefully selected figures, especially radiographs and color clinical photographs. The innovation should be described in detail so that readers can duplicate the procedures or methods.

In addition, the innovation should have been used on a sufficient number of cases or subjects to demonstrate its utility and any adverse effects. Also, experience in use of the

Leandro Araújo Fernandes

technique should allow the author(s) to describe situations or conditions where the procedure may not work as effectively. Only procedures that give consistent results over a sufficiently large number of cases should be submitted for publication.

Manuscripts should be concise and should consist of an abstract, an introduction, a description of the innovation in conjunction with management of a case(s), and a discussion.

It should be noted that certain new innovations might require human subject review and informed consent. It is the responsibility of the author to obtain these.

GUEST EDITORIALS

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

LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the Journal and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 60 days to respond to the observations.

Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management.

Letters should be brief, focused on one or a few specific points or concerns, and must be signed by no more than five individuals.

Citations should be handled as standard references.

MANUSCRIPT SUBMISSION, PREPARATION, AND FORMAT

The Journal of Periodontology accepts manuscript submissions online at the following URL: <http://jperio.manuscriptcentral.com>. The guidelines on pages 184-188 contain information applicable to both hard copy and online manuscript submissions.

Authors should prepare manuscripts in accordance with both the instructions below and the preceding instructions provided for each manuscript category.

Detailed instructions for online submission are described under "Web Uploading Policies and Instructions" beginning on page 189. **Please note that hard copy submissions will no longer be accepted after May 1, 2004. Authors submitting manuscripts after this date must use the online submission system.**

Leandro Araújo Fernandes

Revisions of and inquiries regarding previously submitted manuscripts (hard copy submissions) should be sent to: Managing Editor, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-2690. Telephone: 312/573-3224; e-mail: julie@perio.org.

SUBMISSION

Authorship

Only those individuals who have made a substantial contribution to the work and who are willing to take public responsibility for the content of the manuscript should be listed as authors.

Once the Journal has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Julie Daw, Managing Editor) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper.

Letter of Submission

A letter of submission stating that the material is original, has not been published elsewhere, and is being submitted only to the Journal of Periodontology must accompany each manuscript.

All authors must sign the submission letter as evidence of their approval of the material and its contents.

Submission Address

Hard copy manuscripts (**until May 1, 2004**) and all related correspondence should be sent to: Managing Editor, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-2690. Telephone: 312/573-3224; e-mail: julie@perio.org. Submitting materials directly to any other editor or other Academy staff members will delay the review process.

Authors outside the United States are encouraged to e-mail the Managing Editor (julie@perio.org) to inform the editorial office that a hard copy manuscript has been sent.

PREPARATION

Style

Please follow the guidelines below when preparing the manuscript:

*Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.

Leandro Araújo Fernandes

*The Journal of Periodontology does not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, *e.g.*, or *i.e.*

*Use a block style; do not tabulate or indent material.

*Do not submit a disk with your original hard copy submission.

*Do provide three printed copies of the manuscript and three original sets of illustrations for hard copy submissions.

*Refer to the 4th edition of the *Glossary of Periodontal Terms* published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.

Authors are encouraged to use the new disease classification as outlined in the *Annals of Periodontology*, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions). A summary can be found on the American Academy of Periodontology Web site at www.perio.org/resources-products/classification.htm.

FORMAT

Hard copy manuscripts must be typed on white bond paper (8 1/2" × 11") on one side of the paper only and double-spaced (including illustration legends and references) throughout. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom. Materials should appear in the following order:

Title Page

Abstract (or Introduction) and Key Words

Text

Acknowledgments

References

Figure Legends

Tables

Figures

Each section should begin on a separate page, and pages (including tables and figure legends) should be numbered consecutively beginning with the Title Page as page 1.

Authors should retain a copy of all manuscripts for their own records. Hard copy materials should be mailed flat.

TITLE PAGE

The Title Page should contain: 1) a concise but informative title; 2) first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation for each; 3) name of the department(s) and institution(s) to which the work should be attributed (**please use the footnote symbols on page 188 to identify authors and their corresponding institutions**); 4) disclaimers, if any; 5) the name and address (including fax number and e-mail) of the author(s) responsible for correspondence (**please indicate whether fax number and e-mail can be published**); 6) sources of support in the form of grants, equipment, drugs, or other significant sources of support; 7) any financial relationships between any author and a commercial firm that may pose a conflict of interest; **8) number of figures and tables in the manuscript**; and 9) a short running title of no more than 60 characters.

ABSTRACT OR INTRODUCTION

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

KEY WORDS

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

TEXT

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

ACKNOWLEDGMENTS AND CONFLICT OF INTEREST

At the end of the Discussion, acknowledgments may be made to: 1) individuals who contributed to the research, including technical help or participants in a clinical study (authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name); 2) sources of financial and/or material support; and 3) financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include employment or acting as an officer, director, or owner of a company whose products, or products of a competitor, are being tested. Also, owning substantial stock or having other financial interests in such companies should be disclosed. Positions of authors employed by commercial firms should be included here.

REFERENCES

Leandro Araújo Fernandes

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

All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please refer to the NLM's comprehensive listing at <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>.

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

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or less; when seven or more, list only first three and add et al. Glass DA, Mellonig JT, Towle HJ. Histologic evaluation of bone inductive proteins complexed with coralline hydroxyapatite in an extraskeletal site of the rat. *J Periodontol* 1989;60:121-125.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report No. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996;12:152-157.

Books and Agency Publications

Leandro Araújo Fernandes

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. Systemic Disease in Dental Treatment. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. Current Therapy in Dentistry, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loe H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.

Electronic Citations

8. Online journals without volume and page information. Berlin JA, Antman EM. Advantages and limitations of meta-analytic regressions of clinical trials data. Online J Curr Clin Trials [serial online]. June 4, 1994; doc 134. Accessed July 20, 2000.
9. Online journals with volume and page information. Fowler EB, Breault LG. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: A case report. J Contemp Dent Pract [serial online]. 2001;2(3):31-40. Available from: Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH. Accessed December 15, 2001.
10. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing emerging infectious diseases: Addressing the problem of antimicrobial resistance. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan/antiresist/>. Accessed November 5, 2001.

TABLES

Each table should be prepared double-spaced on a separate page. Tables are numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules.

FIGURE LEGENDS

Legends should be typed double-spaced with Arabic numbers corresponding to the figure. When arrows, symbols, numbers, or letters are used, explain each clearly in the legend; also explain internal scale, original magnification, and method of staining as appropriate. Legends should not appear on the same page as the actual figures.

FIGURES

Leandro Araújo Fernandes

For hard copy submissions (**until May 1, 2004**), submit three complete and original sets of figures.

Each professional drawing, roentgenogram, or other original material should be photographed and sharp, glossy photographic prints submitted. For color clinical figures, include original slides and three sets of prints to ensure quality reproduction.

Photographic prints are usually 5" × 7", but should not be any larger than 8" × 10". Figures should not be mounted. Each figure should have a label pasted on the back indicating the number of the figure, author's name, and top of the figure.

Photomicrographs should have internal scale markings. Human subjects must not be identifiable in photographs, unless written permission is obtained and accompanies the photograph. Lettering, arrows, or other identifying symbols should be large enough to permit reduction and must be applied directly to the figure.

Clinical color photographs are encouraged. There is no charge to the author for publication of any figure.

Computer Graphics and Digital Images of Figures

Submission of digital electronic images is welcome with hard copy manuscripts, but authors are also encouraged to provide high-quality, reproducible copies of all graphics and digital figures. Computer-generated graphics are acceptable when printed on a laser-quality printer and photographic paper; those printed on dot-matrix printers cannot be accepted. Authors are strongly encouraged to prepare basic, simple computer designs that can be clearly understood when reproduced; use of "3-dimensional" graphics is not recommended. Unnecessarily complex designs may be returned for simplification before publication. Details of programs used to prepare digital images must be given to facilitate use of the electronic image. If cropping of the electronic image is necessary, a hard copy with appropriate crop marks should be included.

File Formats for Digital Images

Acceptable file formats for digital images include .eps, .jpg, and .tif. **Please do not save images in Power-Point.** All images saved in CMYK or grayscale mode should have an effective resolution of at least 300 dpi. Bitmap mode graphics should have an effective resolution of at least 600 dpi.

Please note that when scaling images in a page layout program, the effective resolution of the graphic is being changed. For example, a 300 dpi image placed at 200% will have an effective resolution of only 150 dpi.

Do not embed .eps files inside other .eps files. Nesting .eps files can cause output errors and substantially increases processing time. All duotones should be created in a photo manipulation program such as Photoshop (version 5.01 or higher). For color images, always use process or spot colors, not RGB.

UNITS OF MEASUREMENT

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal/National) numbering system.

STATISTICS

Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects or that the study was in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless express written consent from the patient is submitted.

For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

FOOTNOTES

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

IDENTIFICATION OF PRODUCTS

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

REVIEW PROCESS AND PUBLICATION PROCEDURES

Peer Review

The Journal of Periodontology is a peer-reviewed publication. All manuscripts, including State of the Art Reviews, Innovations in Periodontics, Case Reports, Case Series, and Commentaries, are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 60 days of receipt of the Editor's communication.

Copyright

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. A copyright form must be signed by all authors and returned to the Managing Editor.

Reprints

Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading. Reprints can be purchased in 4-color or black and white.

SUBMITTING REVISED HARD COPY MANUSCRIPTS

If original paper was a hard copy submission, authors should submit their revised manuscript, including tables and figure legends, on a 3-1/2" disk using a PC- or Mac-based file.

Be sure to indicate on the disk the software program and version used (e.g., WordPerfect for DOS, Version 6.1; Microsoft Word 2000, etc.).

Also provide two hard (printed) copies of the revised manuscript and two copies of any new or revised figures.

Leandro Araújo Fernandes

Return the revised hard copy manuscript and accompanying materials to: Managing Editor, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-2690.

Please note that hard copy submissions will no longer be accepted after May 1, 2004. Authors submitting manuscripts after this date must use the online submission system. Please see the following page for Web Uploading Policies and Instructions.

Web Uploading Policies and Instructions

The following information will help in preparing and submitting your manuscript to the Journal of Periodontology Web-based peer review system, JOP Manuscript Central. Also refer to pages 182-188 for guidelines on preparing and formatting manuscripts.

Submit manuscripts to <http://jperio.manuscriptcentral.com>. You will be able to monitor the progress of your manuscript through the peer review process.

PREPARING AND FORMATTING ELECTRONIC MANUSCRIPTS

Text file: Submission of manuscripts must be in Microsoft Word format (.doc) or rich text format (.rtf). This applies to both Windows and Macintosh platforms. If you are using any other word processing program, you must save the text file as .rtf.

Use basic fonts such as Arial, Courier, Helvetica, Times, or Times New Roman. Special or mathematical characters and Greek letters that are not on a standard keyboard must be created using the symbol font.

Tables: The system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

Equations: Create an equation as text, treating any mathematical symbols as special characters and assigning them the symbol font. Equations can also be saved as an image file and inserted into the text document.

Figures and illustrations: To prevent problems during the review process, figures and illustrations should be submitted only in the following formats: .eps, .jpg, .gif, or .tif and at the highest resolution possible (at least 300 dpi for CMYK or grayscale mode and 600 dpi for bitmap mode). Any other format might not be readable by a reviewer. Illustrations and graphics for revised manuscripts must be submitted in .eps, .jpg, or .tif format only.

Save figures and illustrations with clear and simple file names, such as "Figure 1a.tif" or "Fig1a.tif." File names should match the labeling that appears in the legends in the text document.

SUBMITTING

For user account information, log on to Journal of Periodontology Manuscript Central at <http://jperio.manuscriptcentral.com>. Here you will be able to either create an account or enter an existing account. If you believe you may already have an account, click on "check for existing account" and enter your e-mail address. If the address you entered is found in the account records, an e-mail will be sent to you at that address containing the associated login information.

If you do not have an account on the system, click on "create a new account." Please fill in all fields accurately. All bolded fields are required. If a required field does not apply to you, enter "none" or "N/A" in the space provided. When you are finished, click on "Submit Information" to continue with your submission.

Author Center: After you have logged in, go to the Author Center and click on "Submit First Draft of a New Manuscript." As you progress through the submission process, note that the information in the "Manuscript Data Summary" box updates upon completion of each screen.

Screen 1 - Manuscript Details. Select a manuscript type from the pull-down menu, and then enter the running title of your manuscript. In the boxes provided, fill in the total number of figures and tables. Be sure to read the submission statement and select "yes" from the pull-down menu. The Journal of Periodontology also requires the signatures of all authors as part of the submission process. A cover letter containing these signatures can be uploaded during the manuscript submission process or faxed separately to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Julie Daw, Managing Editor). Finally, please explain any conflicts of interest if applicable.

Click on "save and continue" when you have finished this screen. If for any reason you exit the system before completing the process, you can continue where you left off by logging in, going to the Author Center, and clicking on the "Partially Submitted Manuscripts" button and following instructions.

Screen 2 - Institutions. Enter information about each institution (up to 20) with which the authors of the manuscript, yourself included, are affiliated. Entries may exceed the size of each field on the screen - the data will not be truncated. Click on "save and continue" when you are finished with this screen or "previous" to return to the previous screen.

Screen 3 - Authors. Enter the authors of the manuscript (up to 20). Indicate the corresponding author and indicate primary, secondary, or tertiary affiliation for each author. Enter the e-mail address for each author as well. Click on "save and continue" when you are finished with this screen or "previous" to return to the previous screen. Once the Journal of Periodontology has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the

editorial office at 312/573-3225 (attn: Julie Daw, Managing Editor) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper.

Screen 4 - Title. Enter the title of your manuscript into the box. You can either copy-and-paste your title from your manuscript text file into the box or type it directly into the box. Use the Character Palette for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript. For example, when you click on the lowercase alpha, the appropriate code for the character appears above. Highlight the code, go up to Edit to copy the code, then paste it into the appropriate spot in your title. Click on "save and continue" when you are finished with this screen or "previous" to return to the previous screen.

Screen 5 - Abstract. You can either copy-and-paste your abstract from your manuscript text file into the box or type it directly into the box. Use the Character Palette for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript. Proofread your abstract carefully; you can also check it on the next screen by clicking on the "View Abstract" link. Click on "save and continue" when you are finished with this screen or "previous" to return to the previous screen. If you are submitting a manuscript that does not require an abstract, please type "N/A" in the abstract box.

Screen 6 - Key Words. Enter the key words for your manuscript into the box. You can either copy-and-paste the key words from your manuscript text file into the box or type them directly into the box. Use the Character Palette for special characters such as Greek letters and mathematical symbols or for formatting such as italics, boldface, or superscript. Click on "save and continue" when you are finished with this screen or "previous" to return to the previous screen.

Screen 7 - Comments to Editor. Enter any comments to the Editor in the box. When you are finished, click on "save and continue" or "previous" to return to the previous screen. Note: You may also upload a cover letter file later by using the File Manager.

Screen 8 - File Upload. Click on "Use the File Manager" to begin uploading your files.

Screen 9 - File Manager. When you upload your manuscript in Microsoft Word format (.doc) or rich text format (.rtf), the file will automatically be converted to a smaller file - a Portable Document Format (.pdf) that cannot be altered. Any figure or illustration in .eps, .gif, .jpg, or .tif will automatically be converted to a smaller .jpg with the filename ending in "_sm.jpg." Original files will be saved as Files for Production; smaller files, which will be saved as Files for Review, allow the files to download faster and the editorial office and reviewers to view the files more easily.

Follow steps 1 through 4:

1. Browse to find the desired file.
2. Select the file designation: main document (includes title page, abstract and key words, text, acknowledgments, references, figure legends, and tables); cover letter (contains the signatures of all authors; can also be faxed to the editorial office at 312/573-3225; attn: Julie Daw, Managing Editor); image file (includes color and grayscale figures; color and black & white line art); or supplemental file (multimedia or tables, if not included with main document).
3. Files uploaded under the file designations of main document, image file, and supplemental file are for review by the reviewers. For the cover letter, select "No" when prompted "Designate whether this file is for review or not."
4. Click upload. You will see an upload confirmation window that asks you to write a description of the document or illustration. Once you have done this, click on "Save Description." You will be brought back to the File Manager (Screen 9), where you can continue uploading files. When you have no additional files to upload, scroll to the far right of the screen (using the lower scroll bar), then click on "save and continue" to proceed to the final screen or "previous" to return to the previous screen.

Screen 10 - Submit for Review. Please verify that all files you require to be reviewed are present in the Reviewer's proof window. Click on "View your proof as will be seen by Reviewers" to verify. When you are finished, click on "Submit Your Manuscript." Confirmation of your submission will be noted. Print your manuscript ID number. Please include this number on any correspondence you send to the editorial office.

FINALIZING SUBMISSION

If you did not upload a cover letter containing the signatures of all authors during the online submission process, please fax this letter to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Julie Daw, Managing Editor).

CHECKING THE STATUS OF YOUR MANUSCRIPT

You can return to your Author Center at any time to check the status of your manuscript (click on "Submitted Manuscripts"). Once a decision has been made, you will be notified by e-mail. No hard copy letters will be mailed.

SUBMITTING REVISED MANUSCRIPTS

To submit a revised paper, follow the steps below:

1. Log on to JOP Manuscript Central at <http://jperio.manuscriptcentral.com>.
2. Select Author Center, then Revised Manuscripts.

3. Click "View Comments/Respond" to address the reviewers' comments, then click "Save Response."

4. Click on the manuscript title next to the box identifying your revised manuscript number (e.g., JOP-04-0000.R1). You will be brought to Screen 9 of 10. Upload your revised paper and figures, following the instructions under "Screen 9 - File Manager" on page 190.

Please note that even if your figures have not been revised, they should be resubmitted with your revised manuscript.

Once the system tells you that your manuscript has been uploaded, be sure to scroll all the way to the far right of your screen (using the lower scroll bar) and select the "save and continue" button.

Follow the instructions on Screen 10 and proceed until you receive a confirmation notice on your screen that your revised manuscript has been successfully submitted to the Journal of Periodontology. You will also receive a confirmation e-mail message from the system when your revised paper has been successfully uploaded and received in the editorial office.

MANUSCRIPTS ACCEPTED FOR PUBLICATION

If your manuscript is accepted for publication, all authors must complete a copyright form, which can be found at <http://jperio.manuscriptcentral.com> under "Instructions and Forms" in the upper right-hand corner of your screen. Please fax this form to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Julie Daw, Managing Editor). You will be notified about a publication date by the Managing Editor.

[Top of Page](#)

Send questions or comments to jperio@perio.org.