

MÁRCIA GONÇALVES DE PAULA

**Terapia fotodinâmica: uma alternativa antimicrobiana
coadjuvante no tratamento periodontal**

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte**

2010

MÁRCIA GONÇALVES DE PAULA

TERAPIA FOTODINÂMICA: UMA ALTERNATIVA ANTIMICROBIANA COADJUVANTE NO TRATAMENTO PERIODONTAL

Monografia apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Especialista em Periodontia.

Orientador: Prof^o. Dr. Lívio de Barros Silveira

Faculdade de Odontologia - UFMG

Belo Horizonte

2010

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Programa de Especialização em Periodontia

Márcia Gonçalves de Paula

TERAPIA FOTODINÂMICA: UMA ALTERNATIVA ANTIMICROBIANA
COADJUVANTE NO TRATAMENTO PERIODONTAL

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, e aprovado pela banca constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Lívio de Barros Silveira - Orientador

Prof. Dr. José Eustáquio

DEDICATÓRIA

Aos meus familiares, pelo apoio e carinho.

Ao Luiz Carlos, Lucas e Bruno pela paciência e compreensão.

À tia Celina e tio Clemente, que foram fundamentais na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor orientador Lívio de Barros Silveira pela paciência

Ao professor José Eustáquio da Costa pelo apoio

Aos colegas

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO -----	12
2 REVISÃO DE LITERATURA -----	14
2.1 Doença Periodontal -----	14
2.1.1 Bactérias Periodontopatogênicas-----	16
2.2 Terapia Fotodinamica -----	18
2.2.1 Conceito-----	18
2.2.2 Mecanismo de Ação-----	19
2.2.3 Fontes de luz-----	21
2.2.3.1 Laser-----	22
2.2.3.2 LEDs-----	24
2.2.4 Agentes Fotossensibilizantes (corantes)-----	25
2.2.4.1 Tipos de Fotossensibilizantes-----	26
2.2.4.2 Ação dos Fotossensibilizantes-----	28
2.3 Terapia Fotodinamica em Periodontia -----	29
2.3.1 Técnica de Aplicação-----	29
2.3.2 PDT em Periodontopatógenos-----	30
3 DISCUSSÃO -----	40
4 CONCLUSÃO -----	46
REFERÊNCIAS -----	47

LISTA DE ABREVIATURAS

Aa - *Agregatibacter actinomycetemcomitans*

AsGa - arseneto de gálio

AsGaAl - arseneto de gálio alumínio

BOP - bleeding on probing – sangramento à sondagem

CAL - clinical attachment level (nível de inserção clínica)

Cm - centímetro

cm² - centímetro quadrado

et al - e colaboradores

FD - fotodesinfecção

GI - gingival index (índice gengival)

GR - gingival recession (recessão gengival)

H₂O₂ - água oxigenada

HeNe - hélio-neon

J - joules

J/cm² - joules por centímetro quadrado

LED(s) - light emitting diode (diodos emissores de luz)

LLLT - low-level laser therapy (terapia laser de baixa potência)

M - metro

Mg - miligramas

mg/ml - miligrama por mililitro

mW - miliwatts

µg/ml - microgramas por mililitro

µW - microwatts

nm - nanômetro

PD - probing depth (profundidade de sondagem)

PDT - photodynamic therapy (Terapia fotodinâmica)

pH - potencial hidrogeniônico

PI - plaque index (índice de placa)

PPD - probing pocket depth (profundidade de sondagem da bolsa)

PS - photosensitizer (fotossensibilizante)

RECAL - relative attachment level (nível de inserção clínica relativa)

RAR - raspagem e alisamento radicular

TBO - toluidine blue (azul de toluidina)

UV - ultravioleta

V - volts

W - watts

W/cm² - watts por centímetro quadrado

w/v - peso/volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de ação da terapia fotodinâmica-----	20
Figura 2: Técnica de aplicação-----	29

RESUMO

A doença periodontal é uma patologia infecciosa de origem bacteriana, que acomete os tecidos periodontais podendo resultar na perda progressiva de inserção conjuntiva e osso alveolar e evoluir até a perda dentária.

A remoção do biofilme e dos depósitos mineralizados da superfície do dente são aspectos fundamentais no sucesso da terapia periodontal, porém, muitas vezes, a terapia mecânica não é capaz de eliminar os patógenos periodontais devido à capacidade de alguns microorganismos invadirem o interior dos tecidos e/ou áreas de difícil acesso aos instrumentos periodontais.

Às vezes, alternativas adjuvantes são necessárias para complementação do tratamento, como antibióticos e antisépticos. Entretanto, o uso desses agentes pode levar a resistência bacteriana e efeitos colaterais indesejáveis. Diante destes problemas, abordagens que sejam eficazes, acessíveis, aplicáveis e que não sejam resistentes aos antibióticos são urgentemente necessárias. Hoje a aplicação da luz (laser ou leds) chegou como mais um campo promissor na terapia periodontal convencional. Quando a luz num comprimento de onda específico é utilizada em conjunto com um fotossensibilizante, leva a reações fototóxicas que induzem destruição de células bacterianas. Essa reação é chamada terapia fotodinâmica. A terapia fotodinâmica é vantajosa pelo seu potencial antimicrobiano local, eficiente, de fácil aplicação e sem efeitos colaterais indesejáveis.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar através de uma revisão de literatura, a utilização da terapia fotodinâmica como redutor microbiano coadjuvante no tratamento das doenças periodontais.

Palavras-chave: Doença periodontal, terapia fotodinâmica, laser.

ABSTRACT

Periodontal disease is an infectious bacterial disease that affects the periodontal tissues may result in progressive loss of connective tissue attachment and alveolar bone and progress to tooth loss. Removal of the biofilm and the mineralized deposits from the tooth surface are crucial aspects for successful periodontal therapy, but often the mechanical therapy is not able to eliminate the presence of pathogens due to the ability of some microorganisms invade the inner tissues and /or areas of difficult access to periodontal instruments .Sometimes, alternative adjuvant are needed to complement the treatment, as antibiotics and antiseptics. However, the use of these agents can lead to bacterial resistance and adverse events. Faced with these problems, approaches that are efficient, accessible, applicable and which are not resistant to antibiotics are urgently needed. Today the application of light (laser or LED) arrived as a more promising field in conventional periodontal therapy. When the light in a specific wavelength is used in conjunction with a photosensitizer, which leads to phototoxic reactions induce the destruction of bacterial cells. This reaction is called photodynamic therapy. Photodynamic therapy is advantageous for their antimicrobial potential local, efficient, easy to apply and without undesirable side effects.

This assessment was desenvolved to verify through a literature review, the use of photodynamic therapy as a reducer microbial therapy coadjuvant in the treatment of periodontal diseases.

Keywords: Periodontal disease, photodynamic therapy, laser.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória do tecido gengival induzida por bactérias residentes no biofilme na superfície subgengival. A inflamação leva à formação de bolsa periodontal, perda de inserção, destruição óssea e uma possível perda de dentes. É uma doença multifatorial modificada por vários fatores de risco e as numerosas e diversas espécies de bactérias residentes no biofilme são responsáveis pela indução e manutenção da inflamação. Em nações industrializadas, a periodontite afeta de 30% a 50% dos adultos sendo que 10% deles nas formas mais graves da doença periodontal (MEISEL e KOCHER, 2005).

Os organismos associados com a doença periodontal compreendem principalmente anaeróbios Gram negativos obrigatórios e capnofilos como *Porphiromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteróides forsythus*, *Agregatibacter actinomycetemcomitans* e varias espiroquetas (WILSON, 2004).

A remoção do biofilme e dos depósitos mineralizados da superfície do dente são aspectos fundamentais na terapia periodontal. No entanto um perfeito procedimento de debridamento periodontal pode diminuir com o aumento da profundidade de sondagem e envolvimento de furca. Assim, reservatórios bacterianos podem permanecer na superfície do dente e pode afetar a cura após o tratamento periodontal (BRAUN, 2008).

Para facilitar a redução do numero de bactérias, agentes antimicrobianos ou anti-sépticos são introduzidos na terapia periodontal. O uso sistêmico de antibióticos pode ser recomendado em determinadas situações como um coadjuvante para a terapia periodontal (TAKASAKI et al., 2009).

Por outro lado, a literatura também evidencia incontáveis estudos que demonstram a seleção e resistência de bactérias promovidas pelo uso excessivo de drogas antimicrobianas na terapia periodontal (FERNANDES et al. ,2009).

Por isso, alternativas adjuntas para uma eficiente remoção de bactérias periodontais tem sido propostas. Uma nova possibilidade é a terapia fotodinâmica (PDT). Geralmente a PDT tem sido utilizada na medicina no tratamento de neoplasias, mas na odontologia o interesse è para eliminar vários microrganismos (LULIC et al. 2009).

Desde o início da década de 1990, a aplicação de energia luminosa (fototerapia) tem sido considerada como uma abordagem de tratamento em periodontia. O laser tem sido usado como um meio eficaz de descontaminação de bolsas periodontais há 20 anos. Possuem altas propriedades bactericidas e têm demonstrado ser eficaz em eliminar bactérias patogênicas bucais associadas com a periodontite e implantodontite. Recentemente, foi instituído um novo tipo de fototerapia não invasivo para eliminação de bactérias, chamado terapia fotodinâmica que utiliza o laser de baixa potência. Ao contrário dos lasers de alta potência, a terapia fotodinâmica pode alvejar seletivamente as bactérias sem danificar os tecidos do hospedeiro (TAKASAKI et al., 2009).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença Periodontal

A infecção bacteriana é o principal agente etiológico das doenças periodontais (FLEMMING 1999). O processo patogênico da doença periodontal é em grande parte, um resultado da resposta do hospedeiro para a destruição microbiana induzida no tecido. O processo destrutivo é iniciado pelo microrganismo, mas são propagados pelas células do hospedeiro (KINANE, 2001), o qual resulta na destruição do tecido de inserção conjuntiva periodontal e reabsorção do osso alveolar (KOMERIK et al., 2003).

A doença periodontal é a principal causa da mortalidade dental em muitos países industrializados e em desenvolvimento (SLOTS e JORGENSEN, 2002).

Entretanto, a simples presença de patógenos periodontais no sulco gengival por si só, não é suficiente para iniciar a inflamação gengival, o que é essencial é que haja uma elevação em suas proporções relativas para que a massa crítica presente exerça uma resposta de dano tecidual. Na verdade, microrganismos periodontopatogênicos estão presentes no sulco gengival, ainda que em número reduzido como membros residentes da flora normal (LOOMER, 2004).

A etiologia microbiana das periodontites tem sido extensamente estudada e não está associada com um único microrganismo, mas com um conjunto de bactérias participando do seu início e progressão. Os periodontopatógenos devem ser capazes de colonizar as bolsas subgengivais e produzir fatores de virulência que sejam nocivos aos tecidos do hospedeiro, ocasionando assim a doença periodontal (KOSEKI e NISHIHARA, 2004).

A maioria dos pacientes com periodontite crônica, apesar de sua diversidade de perfil microbiológico, responde bem aos métodos tradicionais de tratamento periodontal (instruções de higiene bucal, raspagem e alisamento radicular e eventualmente tratamento cirúrgico). Com uma redução significativa nas colônias bacterianas periodontopatogênicas nas bolsas periodontais. No entanto, existem alguns pacientes que não respondem bem a terapia tradicional. Estes pacientes são referidos refratários, eles continuam a perder inserção apesar de receberem terapia periodontal que é bem sucedida na maioria dos pacientes (LOOMER, 2004).

O tratamento não cirúrgico inclui o controle mecânico do biofilme, raspagem e alisamento radicular, é o primeiro passo recomendado e é uma fase indispensável da terapia periodontal, especialmente os indivíduos com doenças sistêmicas como a diabetes, doenças cardiovasculares que podem não estar aptos para a fase cirúrgica (UMEDA et al. 2004).

O debridamento mecânico convencional não elimina todas as bactérias periodontopatogênicas no meio subgingival, especialmente aquelas que habitam áreas inacessíveis como furcas, estrias e concavidades. Patógenos periodontais foram detectados em outros sítios da cavidade bucal e em túbulos dentinários, que também estão fora do alcance da terapia mecânica convencional (ISHIKAWA e BAHNI, 2004).

A eliminação incompleta de patógenos periodontais na terapia não cirúrgica pode resultar numa recolonização e recorrência da doença (UMEDA et al. ,2004).

O uso de antibióticos sistêmicos como tratamento adjunto de doença periodontal pode ser necessário, entretanto seu uso indiscriminado torna-se o grande responsável no efeito da resistência bacteriana às drogas (PRATES et al., 2006).

A incerteza do uso de antibióticos resulta em grande parte da falta de conhecimento sobre alterações no biofilme. Além da variedade de estudos existentes que atualmente não são capazes de concluir qual agente antimicrobiano e sua posologia mais adequada proporcionam melhor efeito clínico e microbiológico nos doentes. Por estas razões, alternativas que possam oferecer a possibilidade de remoção ou redução eficiente dos patógenos periodontais nas superfícies de tecido duro, estão sendo propostas (OLIVEIRA et al., 2007).

2.1.1 Bactérias Periodontopatogênicas

Na gengiva saudável, microrganismos Gram positivo como *Actinomyces* e *Streptococcus* dominam o biofilme. Em fase posterior à formação do biofilme (dias ou semanas higiene bucal deficiente) há um processo de amadurecimento, resultando na mudança para anaeróbios Gram negativos e móveis. Alguns microrganismos mais comuns associados à doença periodontal são os *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Bacteróides forsythus*, *Compilobacter rectus*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bem como os treponemas. No *Workshop* Mundial de Periodontia Clínica de 1996, reconsideraram um grupo de patógenos específicos periodontais como agentes causadores de doença periodontal limitando suas descobertas em três organismos: *A. actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* (anteriormente *Bacteroides forsythus*), e *Porphyromonas gingivalis* (EZZO e CUTLER, 2003).

Este relatório recebeu ampla aceitação da comunidade de periodontologistas da época, e ainda são consideradas válidas. Os patógenos periodontais citados em 1996 permanecem na lista de patógenos em 2010 (ARMITAGE ,2010).

A peculiaridade da cavidade oral é que a maioria das bactérias encontradas está presente como agregados complexos (conhecido como biofilme) nas superfícies dos dentes – biofilme é denominado “placa dental”. O acúmulo do biofilme bacteriano na superfície dental resulta na mais prevalente doença induzida por bactéria no homem: cárie e doença periodontal. A cárie ocorre pelo acúmulo do biofilme supra gengival e envolve a dissolução progressiva do esmalte e eventualmente a dentina subjacente. As doenças periodontais resultam num acúmulo de placa subgengival (WILSON, 2004).

O início da progressão da doença periodontal é atribuído à presença de níveis elevados de bactérias patogênicas dentro do sulco gengival. Existem inúmeras espécies de microrganismos e muitos ainda têm sido identificados, entretanto, tem sido mostrado que um pequeno número exerce influência significativa na doença periodontal (LOOMER, 2004).

Agregatibacter actinomycetemcomitans e *Porphyromonas gingivalis* foram detectados em bolsas periodontais ativas e são consideradas importantes patógenos nas periodontites agressivas (UMEDA et al. 2004).

Agregatibacter actinomycetemcomitans possui um grande número de fatores de virulência com uma gama de atividades que lhe permite colonizar a cavidade bucal, invadirem os tecidos periodontais, driblar a reação imunológica do hospedeiro, iniciar o processo de destruição do tecido conjuntivo e interferir no processo de reparação (PRATES et al. 2006).

Porphyromonas gingivalis produz uma gama de espectro de proteases, incluindo algumas que podem decompor moléculas de imunoglobulinas que aderem à superfície da célula do microrganismo. Têm a capacidade de entrar e replicar dentro das células do hospedeiro, tornando-se um verdadeiro patógeno intracelular.

Possui uma potente endotoxina (lipopolissacarídeos) como parte da membrana externa da sua parede celular e produz muitas moléculas de baixo peso molecular irritantes como amônia, sulfureto de hidrogênio, sulfurados voláteis e ácidos graxos. Muitos mecanismos potenciais patogênicos para o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* também são gerados. Ela adere fortemente ao tecido do hospedeiro, produz bacteriocinas potentes que lhes conferem uma vantagem competitiva sobre outros microrganismos, e desenvolvem resistência aos antimicrobianos como as tetraciclinas. Possuem toxinas que degeneram os fibroblastos, neutrófilos e macrófagos do hospedeiro (ARMITAGE, 2010).

2.2 Terapia Fotodinâmica

2.2.1 Conceito

Fotodinâmica é uma tecnologia que utiliza a combinação de um fotossensibilizante, luz e oxigênio molecular para conseguir a destruição seletiva de um alvo biológico (JORI e BROWN, 2004).

As primeiras experiências com a terapia fotodinâmica datam aproximadamente de cem anos atrás, relatados por Raab que observou que a exposição do corante acridina e luz podem ser letais à *Paramécia*, o protozoário causador da malária. As primeiras fontes de luz utilizavam lâmpadas convencionais com luz não coerente e policromática com um forte componente térmico associado. Com o desenvolvimento do laser, esta fonte de luz mostrou-se mais eficiente que lâmpadas comuns para uso em terapia fotodinâmica (RIBEIRO e ZECELL, 2004).

Terapia fotodinâmica (PDT) também chamada terapia de fotorradiação, fototerapia ou fotoquimioterapia foi introduzida na terapia médica em 1904 como um inativador induzido por luz para células, microrganismos ou moléculas. A terapia fotodinâmica envolve a combinação de uma luz visível, usualmente através de um diodo laser e um fotossensibilizador. Este é um composto que é capaz de absorver a luz por um comprimento de onda específico e transformá-lo em energia útil. Cada fator é inofensivo por si só, mas quando combinados podem produzir efeitos citotóxicos letais, podendo ser seletivamente destruidores celulares. (CHRISTOUDOLES et al. 2008).

Esta combinação de dois elementos não tóxicos (corante e luz) em um ambiente oxigenado induz danos e total destruição de microrganismos (RAGHAVENDRA et al., 2009).

2.2.2 Mecanismo de Ação

Segundo Raghavendra et al. (2009) a PDT envolve três componentes: fotossensibilizador, luz e oxigênio. Quando um fotossensibilizador (PS) é irradiado por luz com um comprimento de onda específico, passa por uma transição a partir de um estado fundamental de baixa energia para um estado excitado singleto. Posteriormente, o fotossensibilizador pode voltar ao estado fundamental, com emissão de fluorescência ou pode sofrer uma transição para um estado de alta energia-estado tripleto. O estado tripleto pode reagir com o oxigênio endógeno para produzir o oxigênio singleto e outras espécies de radicais, causando uma destruição rápida e seletiva no tecido alvo (Figura 1). Esta utilização de oxigênio é conhecida

como consumo de oxigênio fotoquímico. O estado tripleto da fotorreação reage com as biomoléculas por dois mecanismos:

A reação tipo I – envolve a transferência eletrônica de hidrogênio diretamente do fotossensibilizador produzindo íons ou remoção eletrônica de hidrogênio a partir de uma substância para formarem radicais livres. Esses radicais reagem rapidamente com o oxigênio, resultando na produção de espécies altamente reativas de oxigênio (superóxido, radicais hidroxila, peróxido de hidrogênio).

A reação tipo II – produz o oxigênio eletronicamente excitado - oxigênio singleto.

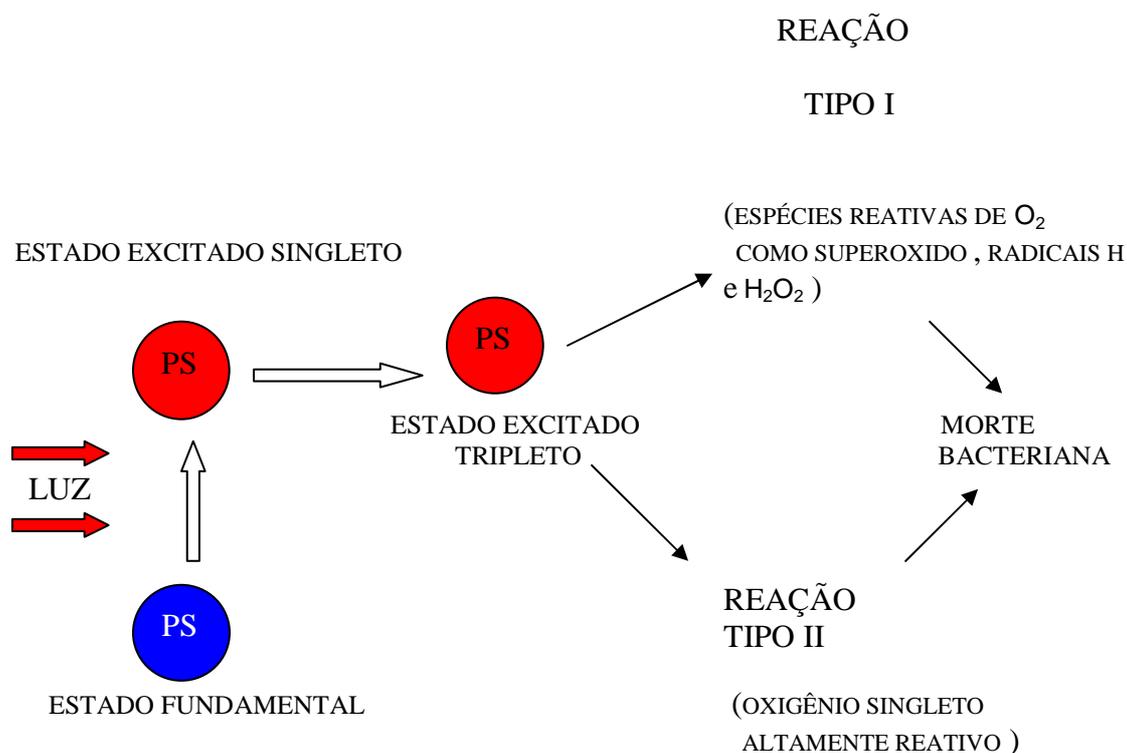


Fig. 1. Mecanismo de ação da terapia fotodinâmica

Adaptada de RAGHAVENDRA et al Australian Dental Journal 2009,4: 1 S103

Essas duas reações indicam um mecanismo de dano tecidual /celular dependentes tanto da tensão de oxigênio quanto da concentração do fotossensibilizador. Seus efeitos têm como alvo as mitocôndrias, lisossomos, membranas celulares e núcleos das células tumorais. O fotossensibilizador induz

apoptose em mitocôndrias e necrose dos lisossomos e membranas celulares (KONOPKA e GOSLINSKI, 2007).

Ainda segundo Konopka e Goslinski (2007), durante a exposição à luz os sensibilizantes localizados nas mitocôndrias podem induzir a apoptose enquanto que os sensibilizantes localizados nos lisossomos e membranas celulares podem causar necrose.

Os produtos citotóxicos, usualmente o oxigênio singleto não podem migrar mais de 0,02 micrômetros após a sua formação, tornando-se assim a aplicação local do PDT ideal, sem denotar perigo às moléculas distantes, células ou organismos (CHRISTODOULIDES et al. 2008).

Em função da migração limitada de oxigênio singleto a partir do local de sua formação como resultado de sua vida curta, os locais de lesão celular inicial da terapia fotodinâmica estão intimamente relacionados com a localização do fotossensibilizador. Assim, a reação ocorre dentro de um espaço limitado, levando a uma resposta localizada e tornando-se ideal na aplicação de locais distantes, sem afetar as moléculas, células ou órgãos. Parece que o principal agente citotóxico responsável para os efeitos biológicos do processo de foto-oxidação é o oxigênio singleto. Portanto, o processo da terapia fotodinâmica antimicrobiana é geralmente mediada por uma reação tipo II, que é aceita como a principal via de danos às células microbianas. (TAKASAKI et al. 2009).

2.2.3 Fontes de luz

Os benefícios, bem como as reações adversas da luz solar têm sido utilizados por muitos séculos como fins terapêuticos. Somente com o início do século XX é que

foram acumulados dados experimentais que permitiram uma visão básica dos mecanismos e utilização prática da luz. A radiação UV foi aplicada para fins terapêuticos, por exemplo, no tratamento de tuberculose e raquitismo (MEISEL e COCHER, 2005).

O uso de lasers e leds como fontes de luz foi o passo seguinte no desenvolvimento tecnológico da terapia de luz (KARU, 2003).

2.2.3.1 Laser

Laser é um acrônimo para *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Os princípios para o laser foram desenvolvidos pela teoria de Einstein no princípio dos anos de 1900 e o primeiro aparelho foi apresentado em 1960 por Maimam. Desde então os lasers tem sido empregados em diversas áreas da medicina e cirurgia. (AOKI et al., 2000).

E ainda segundo Aoki et al. (2000) ,quando a luz laser alcança um tecido, pode ser refletida, espalhada, absorvida ou ser retransmitida aos tecidos vizinhos. Nos tecidos biológicos, a absorção é principalmente devido à presença de moléculas livres de água, proteínas, pigmentos e outras macro moléculas. O coeficiente de absorção depende fortemente do comprimento de onda da irradiação de entrada do laser. Em interações térmicas, a absorção de moléculas de água desempenha um papel significativo.

Os lasers são classificados em lasers de baixa intensidade, que são lasers que têm efeitos teciduais não térmicos e lasers em alta intensidade com efeitos térmicos sobre os tecidos biológicos (SOUSA, 2007).

Os lasers de alta intensidade também conhecidos como *Power Laser* ou laser cirúrgico, podem ser usados para coagulação, corte vaporização e carbonização de acordo principalmente com o efeito térmico promovido após a absorção do feixe pela matéria. Os lasers de baixa intensidade, também conhecidos como *Soft Lasers* terapêuticos são utilizados excluindo-se a possibilidade de manifestação de efeitos térmicos. Neste caso, a interação da luz laser com o tecido, poderá promover alterações no mesmo, o que poderá culminar em efeitos analgésicos, antiinflamatórios, antiedematosos e cicatrizantes. Dentre os lasers de baixa intensidade estão os lasers semicondutores (AsGa e AsGaAl) e os lasers de He-Ne(SILVEIRA ,2001).

Atualmente, o laser de baixa potência ou low-level laser therapy (LLLT) ou fotobiomodulação é considerado parte da terapia de luz ou parte da fisioterapia. As aplicações clínicas do laser de baixa potência são diversas. O campo é caracterizado por uma variedade de metodologias e usos de diversas fontes de luz (laser, leds) com diferentes parâmetros (comprimento de onda, potência, modos de operação de onda contínua ou pulsada) (KARU, 2003).

O laser é uma fonte luminosa capaz de emitir simultaneamente luz monocromática, coerente e colimada de grande potência. O termo monocromático significa que o laser emite luz de uma só frequência ou de algumas poucas bandas de frequência muito próximas uma das outras. A palavra coerência indica que as diferentes ondas elementares que compõem a onda de luz laser mantêm uma relação fixa entre as respectivas fases. Entende-se por laser colimado, um feixe luminoso praticamente paralelo com divergência mínima (GUTKNECHT e FRANZEN, 2004).

Uma vez o laser absorvido pelo tecido, ele poderá atuar a nível molecular, excitando elétrons ou partes da molécula, promovendo movimento das cargas nessa molécula. Se essa excitabilidade for relativamente pequena, ou seja, se tratar de um laser de baixa intensidade poderá ocorrer uma bioestimulação ou bioinibição para as reações químicas e fisiológicas naturais desse tecido; contudo, se se tratar de um laser de alta intensidade, a energia depositada nesse tecido alvo será tão grande a ponto de romper ligações químicas dessa molécula ou mesmo remover elétrons resultando no rompimento desse tecido (LIZARELLI, 2005).

2.2.3.2 LEDs

Um leds ou diodo emissor de luz é um componente eletrônico formado por um material semicondutor que emite luz quando uma corrente elétrica passa através deste. Os leds emitem luz por meio da movimentação de elétrons através de diferentes materiais semicondutores, produzindo uma emissão espontânea de fótons não coerentes. Os lasers precisam de uma grande quantidade de energia para sua geração enquanto que os leds necessitam de pouca energia para geração de luz. Entre os dispositivos utilizados como fonte de luz em odontologia, os leds são os mais simples e baratos. Apresentam um largo espectro de luz sendo mais utilizados em sistemas de transmissão de menor capacidade. Embora seja uma fonte de luz divergente e não coerentes semelhantes à luz halógena, apresentam um espectro de emissão bem mais estreito, tendo um aproveitamento bem melhor que a luz halógena (SOUSA, 2007).

Uma diferença significativa entre os lasers e os leds é a forma como a energia de luz é levada (saída de potencia óptica-OPD). A potência de pico dos leds são

medidas em miliwatts, enquanto que os lasers são medidos em watts. Os Leds fornecem um mesmo comprimento de onda de luz suave em comparação com os lasers e com uma saída de energia substancialmente menor. Não levam energia suficiente para danificar os tecidos e não tem o mesmo risco de danos acidentais oftálmicos que os lasers oferecem. Os Leds dispersam ao longo de uma maior superfície de área que os lasers podendo ser usada em grandes áreas resultando em menor tempo de tratamento. Os efeitos biológicos dependem dos parâmetros de irradiação, tais como comprimento de onda, dose, intensidade, tempo de irradiação (tempo de tratamento), onda contínua ou de modo cursado e por ultimo o padrão de pulsação. A luz é medida em comprimentos de onda e expressa em unidades de nanômetros (nm). Comprimentos de ondas são freqüentemente designados de acordo com sua cor associada e incluem azul (400-700 nm), verde (470-550 nm), vermelho (630-700 nm) e infravermelho (700-1200 nm). Em geral, quanto maior o comprimento de onda mais profunda é a penetração tecidual (BAROLET, 2008).

2.2.4 Agentes Fotossensibilizantes (corantes)

Nas últimas décadas, diversos autores se voltaram ao primeiro estudo de RAAB, estudando a eliminação de microorganismos pelo tratamento fotodinâmico e para isso diversos corantes foram testados, como os azuis, roxos, marrons, verdes entre outras cores complementares aos comprimentos de onda apresentado pelo laser (RIBEIRO e ZECELL, 2004).

Bactérias também podem ser mortas por luz visível na presença de um corante sensibilizante. Muitos corantes têm inerente efeito antibactericida, no

entanto, apenas durante a irradiação fotodinâmica suscitou efeito bactericida (PRATES et al. 2006).

Existem numerosos compostos exibindo propriedades fotossensibilizantes e por isso é essencial escolher um composto que atinja certos critérios como: propriedade de ligação seletiva, coloração mínima da mucosa, alto rendimento quântico de radicais livres, longa história de uso seguro e demonstração de eficácia contra patógenos segmentados (ANDERSEN et al., 2007).

Quando os primeiros relatórios mostram propriedades de absorção de luz e fluorescência de vários corantes, tornou-se claro que a excitação do corante por luz exerce ação destrutiva no sistema biológico (OLIVEIRA et al. 2007).

2.2.4.1 Tipos de Fotossensibilizadores

Ribeiro e Zezell (2004) relatam que estudos têm demonstrado o uso de corantes azuis, principalmente o azul de toluidina e o azul de metileno associados ao laser He-Ne com comprimento de onda de 632,8 nm apresentam os melhores resultados na redução microbiana de diversas culturas de bactérias e fungos in vivo.

Mais de 400 compostos são conhecidos com propriedades fotossensibilizantes incluindo corantes, medicamentos, drogas, cosméticos, produtos químicos e substâncias naturais (MEISEL e KOCHER, 2005).

O verde malaquita mostra uma forte absorção no espectro visível vermelho e apresenta uma facilidade de penetrar através da membrana celular de bactérias Gram positivas. Este corante catiônico que pertence à família trianilmetano (que também inclui cristal azul violeta e Victória) pode ser utilizado como potencial

fotossensibilizador, uma vez que promove dissipação potencial da membrana celular (PRATES et al. 2006).

Uma grande quantidade de porfirinas endógenas está presente também em bactérias preto pigmentado que colonizam a cavidade bucal, incluindo *Prevotella intermédia* e *Prevotella nigrencens* (JORI et al. 2006).

O azul de metileno tem demonstrado uma historia de cem anos de uso seguro em humanos e um perfil de toxicidade muito baixo (ANDERSEN et al., 2007).

Nos estudos de Luan et al. (2009) com azul de toluidina em camundongos, os autores concluíram que os resultados são encorajadores uma vez que mesmo com doses muito elevadas de azul de toluidina (2,5mg/ml) e luz laser (140j/cm²) do que os exigidos para erradicação de microrganismos in vitro, não houve efeitos adversos detectáveis nos tecidos periodontais.

A maioria dos fotossensibilizadores que vem sendo estudados para o tratamento do câncer e outras doenças teciduais estão baseadas nas porfirinas, clorinas, bacteriocinas e nas ftalocianinas. No entanto, corantes que são frequentemente propostos como fotossensibilizadores antimicrobianos possuem diferentes estruturas moleculares, como o rosa bengala e as fenotiazinas azul de orto toluidina e azul de metileno. Sabe-se que as bactérias Gram positivas são muito mais sensíveis à ação fotodinâmica em relação às Gram negativas e que o fotossensibilizador ideal para eliminar bactéria deve ser catiônico. Os fotossensibilizadores mais utilizados clinicamente em tratamentos antimicrobianos são os sais de fenotiazinas. O azul de metileno e o azul de orto toluidina juntamente com as fontes de luz de emissão vermelha estão sendo utilizados na desinfecção de produtos sanguíneos e na desinfecção de cavidades dentais, assim como estão sendo propostos no tratamento de periodontite (YAMADA, 2009).

Segundo Raghavendra et al. (2009), a terapia fotodinâmica utiliza vários componentes fotoativos. Quimicamente muitos fotossensibilizadores pertencem a corantes e grupos cloro porfirinas. Uma variedade de fotossensibilizadores inclui:

- 1- Corantes: corantes tricíclicos com diferentes meso átomos (azul de metileno, azul de toluidina O e acridina laranja) e ftalocianinas (ftalocianina alumino dissulfonada e ftalocianina Zn catiônico).
- 2- Cloros: cloro e6, cloro e6 estanhoso, cloro e6 2,5N-metil-d-glucamina (BLC1010), polilisina e polietileneimine conjugado de cloro e6.
- 3- Porfirinas: Hcl hematoporfirinas, fotofrim e ácido 5 aminotevulinico (ALA), derivados de benzoporfirin (BPD).
- 4- Xantinas: eritrosina.
- 5- Monoterpene: azuleno.

2.2.4.2 Ação dos Corantes

A atividade fotodinâmica do fotossensibilizante é baseada na reação de foto oxidação o qual induz reações bioquímicas e morfológicas. Quando a molécula do fotossensibilizador absorve a luz de energia ressonante, pode sofrer transição eletrônica para um estado excitado singleto. Após a absorção da luz, o fotossensibilizador, inicialmente no estado fundamental é ativado para um estado de curta duração que pode converter para um estado tripleto de longa duração. O estado tripleto e o estado foto ativado o qual, pode gerar espécies citotóxicas como o oxigênio singleto. Estas espécies reativas de oxigênio são responsáveis por danos irreversíveis para a membrana celular incluindo modificações protéicas (PRATES et al., 2006).

2.3 Terapia Fotodinâmica em Periodontia

2.3.1 Técnica de Aplicação (figura 2)

Após realização do debridamento mecânico com curetas manuais dos sítios periodontalmente doentes (A, B), o fotossensibilizador é colocado no interior da bolsa periodontal ou peri-implantar via seringa (C), e o excesso de corante é removido por spray de água e em seguida uma fibra óptica é colocada diretamente na bolsa (D). O oxigênio surge e muitos outros radicais reativos que são tóxicos para as bactérias são produzidos, resultando em uma desinfecção fotoquímica da bolsa periodontal com melhor cicatrização local (E) (TAKASAKI et al. 2009).

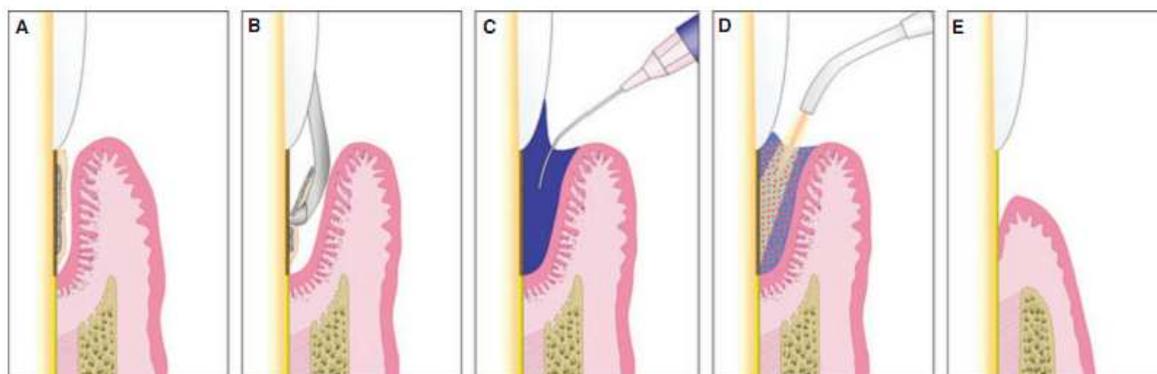


Fig. 2 – Técnica de Aplicação

Fonte : Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. Periodontology 2000 Takasaki et al ,2009,p 9.

2.3.2 PDT em Bactérias Periodontopatogênicas

Os primeiros trabalhos utilizando a terapia fotodinâmica sobre bactérias orais foram realizados por Wilson et al. (1992). 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, o cristal de violeta e a dihematoporfirina éster. Neste mesmo estudo, TBO e azul de metileno mostraram-se eficazes na redução de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Agregatibacter actinomycetemcomitans* in vitro. Em todos os casos, o uso do corante na ausência da luz laser não apresentou efeito significativo sobre a viabilidade dos microrganismos testados.

Komerik et al. (2000) avaliaram a capacidade da PDT em afetar a potência de dois principais fatores de virulência de bactérias Gram negativas: o lipopolissacarídeo (LPS) e proteases. O laser vermelho He-Ne de 632,8 nm (35mW) juntamente com o corante azul de toluidina (TBO) foram utilizados neste estudo. Os resultados demonstraram que a combinação de PDT +TBO foi capaz de reduzir significativamente a capacidade de LPS a estimular a liberação de citocinas pró inflamatórias. Eles concluíram que PDT + TBO reduziu o excesso de produção de citocinas diminuindo seus efeitos patológicos.

Avaliando também a ação do laser sobre microrganismos Soukos et al. (2003) verificaram a capacidade da PDT sobre o biofilme de 12 pacientes com periodontite crônica utilizando o fotossensibilizador clorina e6 e conjugado de poli-l-lisina a partir

de um diodo laser 10w(665nm) com 15j/cm². Os resultados mostraram que no biofilme tratado com o fotossensibilizador conjugado, houve uma redução de até 99% de bactérias do biofilme após a PDT. Concluíram que a aplicação do conjugado aumenta a penetração do fotossensibilizador aumentando a ação da terapia fotodinâmica.

Komerik et al. (2003) realizaram um estudo avaliando a capacidade da PDT na viabilidade de microrganismos. Os autores utilizaram *Porphyromonas gingivalis* da linhagem w50, as quais foram inoculadas no interior da cavidade bucal de ratos. Imediatamente após a inoculação de 25ml de *P.gingivalis*, na região dos molares superiores, foi aplicado o fotossensibilizador azul de toluidina nas concentrações de 0, 01, 0,1e 1 µg/ml. Utilizaram um diodo laser de comprimento de onda de 630 nm em doses de 6, 12,24 e 48 joules por 1, 2,4 e 8 minutos. Os resultados sobre as bactérias mostraram reduções significativas nas contagens viáveis de microrganismos em todas as combinações de azul de toluidina e luz. Na análise histológica, os autores não observaram nenhuma alteração nas estruturas do periodonto como ulcerações, inflamação do tecido conjuntivo, mesmo nas concentrações mais altas tanto do corante quanto do laser. Concluíram que a terapia fotodinâmica tendo como corante o azul de toluidina, promoveu a redução de importante periodontopatógeno, sem causar danos aos tecidos adjacentes. A perda óssea alveolar foi significativamente menor nos ratos tratados com a terapia fotodinâmica.

Pfitzner et al. (2004) investigaram a ação de três fotossensibilizadores: clorina e6, BLC1010 e BLC1014 analisados por métodos diferentes sobre culturas de bactérias periodontopatogênicas (*Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Capnocytophaga gingivalis*). Os métodos incluíram a análise de zonas

de inibição em placas de ágar, determinantes de unidades formadoras de colônias (UFC) bem como a utilização de um kit de viabilidade bacteriana. Um diodo laser (662-+3nm) foi utilizado em todos os testes e todas as amostras foram irradiadas com diferentes densidades de energia: 5,3j/cm² e 20,1j/cm² por 60 segundos. Em todos os testes, as bactérias foram expostas ao fotossensibilizador por 15 minutos. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica com clorina e6 e BLC1010 é vantajosa para suprimir bactérias periodontopatogênicas.

Sigusch et al. (2005) mostraram que PDT e fotossensibilizantes juntamente com uma luz laser (662nm) foram superiores na redução de sinais periodontais como vermelhidão e sangramento à sondagem num estudo em cães. Houve também supressão significativa de *Phorphiromonas gingivalis*.

Utilizando culturas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* num estudo in vitro Prates et al. (2006) avaliaram a capacidade do corante verde malaquita combinado com o laser de baixa potência na morte de bactérias periodontopatogênicas após terapia fotodinâmica. Utilizaram 0,01%w/v de verde malaquita por 5 minutos e aplicação de 3 e 5 minutos de laser com doses de 5,4 e 9 joules/cm² respectivamente. Os resultados mostraram uma redução de 99% das amostras de *A. actinomycetemcomitans* quando foram utilizados 0,01% w/v de verde malaquita associado ao laser (660nm) e que o corante por si só não apresentou efeito sobre a bactéria. Concluíram que a ação é dose dependente e nas culturas que receberam menor dose de energia, a redução bacteriana foi menor.

Sousa (2007) avaliou e comparou a sensibilização letal de três periodontopatógenos: *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomicetemcomitans* e *Prevotella intermédia* utilizando o laser (660nm) e o LED (Light Emitting Diode) também de comprimento de onda de 630-+3nm por 3 minutos

no processo de redução bacteriana, empregando o corante azul de toluidina O (TBO) a 0,01% . Os resultados mostraram diferenças entre os grupos da terapia fotodinâmica (grupos 6, 7,8) e do controle bem como dos grupos que receberam somente o laser ou LED ou TBO. Os valores percentuais de redução bacteriana do grupo PDT foram de 99,8% no grupo 6, 81,9% no grupo 7 e 99,8% no grupo 8 para o *A. actomycetemcomitans*. Para o *F. nucleatum* foi de 93,37%(6),84%(7) e 99,8% no grupo 8, e para a *Prevotella intermédia* a redução foi de 26,3%,38,6% e 49,5% respectivamente, demonstrando assim que o corante azul de toluidina O a 0.01% associado ao laser e ao LED apresenta um excelente potencial para a utilização em PDT com fotossensibilização letal dessas bactérias dentro de padrões utilizados no experimento.

Num ensaio clínico controlado randomizado em pacientes com periodontite agressiva Oliveira et al. (2007) investigaram a aplicação da terapia fotodinâmica por análise de parâmetros clínicos: índice de placa (PI), índice gengival (GI), sangramento à sondagem (BOP), profundidade de sondagem (PD), recessão gengival (GR) e nível de inserção clínica relativa (RCAL). Estudaram 10 pacientes com periodontite agressiva com bolsas periodontais iguais ou superiores a 5 mm em pelo menos dois lados dos dentes. De um lado o dente foi tratado aleatoriamente com raspagem e alisamento radicular enquanto que no outro lado foi realizado a PDT aplicando um laser com comprimento de onda de 660nm e 60mw/cm² em conjunto com um corante cloreto de fenotiazina na concentração de 10µg/ml por um minuto dentro da bolsa. Em seguida uma fibra óptica de 0,6mm foi aplicada por 60 segundos totalizando 1 minuto por dente e após 3 meses os resultados encontrados foram: em todos os parâmetros avaliados, não houve significância clínica em comparação aos 2 grupos, porém, numericamente os resultados foram mais

pronunciados para o grupo de PDT quando se avaliou a PD, GR e RCAL. Todos os outros parâmetros estudados (PI, GI e BOP) mostraram melhorias notáveis entre a avaliação inicial e final (3 meses), mas quando ambos os grupos foram comparados, as diferenças não foram estatisticamente significantes. Os autores concluíram que a terapia fotodinâmica e raspagem e alisamento radicular apresentam resultados clínicos semelhantes em tratamento periodontal não cirúrgico, mas outros estudos com amostras maiores são necessários para confirmar esses resultados.

Em outro estudo utilizando ratos como animais modelo, Almeida et al. (2007) avaliaram o efeito da terapia fotodinâmica na progressão da doença periodontal. Foi induzido periodontite nestes animais os quais foram divididos em 4 grupos: o grupo 1 não recebeu nenhum tratamento, o grupo 2 foi tratado com 1 ml de fotossensibilizador azul de metileno (100µg/ml), o grupo 3 foi tratado apenas com o laser de baixa potência (685nm) e o grupo 4 com a aplicação do laser durante 1 minuto juntamente com 1 ml de azul de metileno. Após o sacrifício avaliou-se a histologia e radiografia dos tecidos. Houve redução de perda óssea em todos os grupos. Na análise histológica não houve diferenças estatísticas significantes entre os grupos nos períodos de 5 a 30 dias para reações inflamatórias no tecido conjuntivo, ligamento periodontal e reabsorção alveolar. Na análise radiográfica a PDT influenciou de forma significativa a perda óssea reduzida de 5 a 15 dias, e em 30 dias não houve diferenças de perda óssea entre os grupos.

Andersen et al. (2007) realizaram um estudo randomizado com 33 pacientes com periodontite crônica moderada a avançada. O objetivo foi avaliar a utilização da fotodesinfecção (FD) quer isoladamente ou em conjunto com a raspagem e alisamento radicular (FD + RAR) em comparação com indivíduos que receberam apenas raspagem e alisamento radicular (RAR). Foi utilizado um diodo laser

(670nm) e 150mw por 60 segundos (por sítio), e o fotossensibilizador azul de metileno 0,005% (w/v) e os grupos foram avaliados após 12 semanas. Os resultados mostraram diferenças estatisticamente significativas, a adição de FD+RAR mostrou melhoras após 3 vezes maior. A profundidade de sondagem apresentou melhorias semelhantes para os grupos PD bem como para o grupo que recebeu apenas RAR. No entanto, a adição de FD+SRP melhorou o resultado da raspagem e alisamento radicular em aproximadamente 50%. O resultado final do presente estudo sugere que a terapia fotodinâmica é uma abordagem eficaz e não-invasiva para o tratamento crônico de periodontites.

Christodoulides et al. (2008) avaliaram os efeitos clínicos e microbiológicos da terapia adjunta da PDT no tratamento periodontal não cirúrgico. Foram tratados 24 pacientes com periodontite crônica com raspagem e alisamento radicular associado ou não a terapia fotodinâmica. A avaliação clínica foi realizada 3 e 6 meses após as terapias. Foi também avaliada uma variedade de espécies de bactérias periodontopatogênicas (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticula*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* e *Capnocytophaga spp*). Um corante foi aplicado no grupo teste por 3 minutos e uma luz laser de comprimento de onda de 670 nm e 75mw por 1 minuto. Realizou-se apenas uma sessão de PDT, e os resultados achados apontaram que não houve diferenças estatisticamente significante nos parâmetros de nível de inserção clínica e profundidade de sondagem encontrados nos 2 grupos. Concluindo seus estudos, os autores relataram que a aplicação adicional de um único episódio de PDT junto com raspagem e alisamento radicular (SRP) não resultou em melhorias adicionais em

termos de profundidade de sondagem e ganho de inserção clínica, mas resultou em uma redução do sangramento à sondagem em comparação com a SRP sozinha.

Num ensaio clínico randomizado Braun et al. (2008) avaliaram a efetividade da terapia adjunta da terapia fotodinâmica em periodontite crônica. Foram selecionados 30 pacientes com periodontite crônica e todos submetidos à raspagem e alisamento radicular com curetas manuais e aparelhos ultra sônicos. A PDT foi realizada com um diodo laser de 660nm de 100mw e o corante utilizado foi o cloreto de fenotiazina por 3 minutos e ativado por laser durante 1 minuto. Os resultados mostraram que a relação fluxo do fluido sulcular não foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos, diminuiu após o tratamento e permaneceu ainda menor após 3 meses. Houve também uma diminuição dos valores da profundidade de sangramento e ganho de inserção clínica em ambos os grupos com maior impacto sobre os sítios tratados com PDT. No presente estudo os autores mostraram que os resultados clínicos do tratamento periodontal não cirúrgico de periodontite crônica foram melhorados com terapia fotodinâmica.

Fucui et al. (2008) avaliaram o efeito de luz monocromática de 400nm a 700 nm sem uso de corantes sobre *Porphyromonas gingivalis* e encontraram uma inibição significativa de *P. gingivalis* em 400 e 410nm de luz azul e em comprimentos de onda mais longos acima de 500nm não produziu reduções significativas. Os autores concluíram que mesmo que estudos futuros de luz monocromática sobre os tecidos ainda precisam ser investigados, esta terapia pode ser uma estratégia promissora e esperançosa na terapia periodontal.

Qin et al. (2008) investigaram a eficácia da terapia fotodinâmica na destruição de bactérias periodontais in vivo a partir de um modelo de doença periodontal em ratos causados pela infecção natural em vez de uma única espécie de bactéria

específica simulando uma situação clínica tanto quanto possível. Foi utilizado um corante azul de toluidina O (1 µg/ml) juntamente com um diodo laser (635nm) com fibra ótica de 159mw/cm² para um grupo e num segundo foi realizado tratamento de raspagem e alisamento radicular e posteriormente comparados. Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que tanto a PDT quanto o tratamento convencional apresentaram um efeito bactericida importante (4% e 4,3% respectivamente) em comparação com os locais de controle. Houve também redução de sinais clínicos em ambas as modalidades e no exame histológico, as mudanças encontradas foram semelhantes nos dois grupos e nenhuma alteração prejudicial foi observada. Estes resultados apóiam o fato que o azul de toluidina junto com a PDT comparada com a raspagem e alisamento radicular, podem causar fotoinativação letal de bactérias periodontopatogênicas preservando os tecidos normais adjacentes sem causar efeitos adversos.

Polanski et al. (2009) avaliaram o potencial bactericida e efetividade clínica da terapia fotodinâmica no tratamento de periodontites. Foram tratados 58 pacientes com periodontite crônica moderada a grave com ultra-som (US) e ultra-som associado à PDT. Valores basais clínicos (índice gengival, profundidade de sondagem e inserção clínica) foram avaliados 90 dias após tratamento bem como os patógenos periodontais (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella* e *Treponema*) também foram avaliados 10,42 e 90 dias respectivamente. Um corante azul foi utilizado por 3 minutos e um diodo laser (680 nm) e 75mw em todas as superfícies dos dentes por 1 minuto e no fundo da bolsa uma fibra ótica foi aplicada por 1 minuto. Diferenças entre os grupos não foram observadas para nenhum dos parâmetros avaliados, embora reduções visivelmente maiores no sangramento à sondagem foram vistos no grupo de PDT do que no grupo controle. *Porphyromonas*

gingivalis reduziu de forma significativamente nos dois grupos, mas a *Treponema denticula* e *Tannerella forsythensis* não foram observados reduções significativas em nenhum dos grupos. Os autores não confirmaram seus resultados com investigações clínicas de outros autores onde a raspagem e alisamento radicular junto com a terapia fotodinâmica tiveram melhorias significativas em relação à raspagem e alisamento radicular sozinhos.

Lulic et al. (2009) avaliaram as melhorias clínicas (profundidade de sondagem - PS e nível de inserção clínica - NIC) de tratamento com PDT de bolsas residuais de 10 pacientes de manutenção de terapia periodontal de suporte de periodontite crônica. Foi realizado um programa de aplicações repetidas de PDT (1, 2,7 e 14 dias) após raspagem e alisamento radicular, com corante a base de cloreto de fenotiazina por 3 minutos e o laser de 670nm(75mw) com fibra óptica por 1 minuto. Os pacientes foram acompanhados por 1, 3, 6 e 12 meses. Os resultados mostraram maiores reduções de PPD no grupo teste do que o grupo controle após 6 meses e um ganho significativo de CAL no grupo teste, mas não no controle. Uma diminuição significativa nos níveis de sangramento foi observada no grupo teste do que no controle nos 3,6 e 12 meses. Os autores concluíram que embora a PPD e CAL não tenham sido diferentes para os 2 grupos após 12 meses, a PDT pode ser recomendada no tratamento de bolsas residuais após terapia periodontal de suporte.

Num estudo semelhante com pacientes com periodontite crônica em terapia periodontal de suporte Chondros et al. (2009) avaliaram características clínicas e microbiológicas de 24 pacientes que foram divididos em 2 grupos, (grupo controle) recebeu apenas raspagem e alisamento radicular (RAR) e (grupo teste) recebeu RAR + PDT com corante a base de cloreto de fenotiazina e laser de 670nm(75mw) com ponta de fibra óptica por 1 minuto. Os resultados mostraram que não houve

diferenças significativas para PPD e CAL para ambos os grupos. Houve reduções dos microrganismos avaliados (*A. actomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticula*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga ssp*) para ambos os grupos. Os autores concluíram que a aplicação adicional de um único episódio de PDT junto com RAR não resultou em melhorias adicionais em termos de PPD e ganho de CAL, mas resultou em uma redução significativa de sangramento no grupo teste do que os pacientes que receberam apenas SRP.

Nos ensaios clínicos de Pinheiro et al. (2010), avaliaram a capacidade da PDT na redução de bactérias viáveis de bolsas de pacientes com periodontite crônica. As bactérias foram coletadas antes e após raspagem e também após terapia fotodinâmica. Observaram uma redução de 81,24% de bactérias após raspagem bem como 95,90% após terapia fotodinâmica. Os autores concluíram que é possível o uso de PDT após raspagem radicular visando o controle microbiano periodontal e menor uso de antimicrobianos.

3 DISCUSSÃO

Está bem estabelecido que a periodontite esteja associada com microrganismos presentes na placa subgengival (ARMITAGE, 2010; KINANE, 2001; LOOMER, 2004) e a associação de bactérias periodontopatogênicas na estabilidade e atividade da doença periodontal foi avaliada em vários estudos (FLAMMING, 1999; NISHIHARA e KOSEKI, 2004; READY, 2008).

A terapia periodontal não cirúrgica ainda constitui o primeiro passo no controle das infecções periodontais (ISHIKAWA e BAHNI, 2004, LOOMER, 2004), os métodos de raspagem e alisamento radicular e/ou terapia adjunta de antimicrobianos são bem sucedidos na maioria dos casos para resolução da inflamação restabelecimento da saúde periodontal (MEISEL e KOCHER, 2005). Entretanto muitas vezes o debridamento mecânico convencional deixa lacunas, pois pode não eliminar todos os periodontopatógenos subgengival principalmente na área de furca, concavidades e paredes da bolsa (ISHIKAWA e BAEHNI, 2004, BRAUN et al. 2008). Nestes casos a literatura ressalta o uso de agentes antimicrobianos. Slots e Jorgensen (2002) e Umeda et al. (2004) apóiam a antibioticoterapia sistêmica nas periodontites agressiva e refratária, pois as periodontites crônicas geralmente são bem controladas com a terapia mecânica. Contudo o tratamento quimioterápico pode ser acompanhado por efeitos colaterais como distúrbios gastrintestinais ou pode levar o desenvolvimento de resistência bacteriana.

É indispensável, portanto, que alternativas sejam desenvolvidas para o tratamento de doenças em que os agentes causadores são resistentes aos antibióticos. A terapia fotodinâmica pode ser esta alternativa, pois pode atuar na redução de patógenos resistentes a antibióticos, podendo também impedir a

propagação destas bactérias (WILSON, 2004; JORI et al, 2006). Rhagavendra et al 2009 relata que PDT é mesmo efetivo contra bactérias resistentes a antibióticos, pois enzimas antioxidantes produzidas por bactérias podem se proteger contra alguns radicais de oxigênio, mas não contra o oxigênio singlete.

O laser é um sistema que se baseia na amplificação da luz, sua interação com os tecidos depende das propriedades ópticas dos tecidos e do comprimento da onda de luz (GUTKNECHT e FRANZEN, 2004; KARU, 2003). Ao incidir sobre os tecidos, o feixe pode ser refletido, espalhado, absorvido, ou ser retransmitido aos tecidos vizinhos (AOKI et al. 2000; RIBEIRO e ZEDEL, 2004). Essa interação pode resultar em efeitos térmicos, mecânicos, elétricos, fotoquímicos e quânticos (SILVEIRA, 2001). Nas áreas da saúde, lasers em baixa intensidade vêm sendo utilizados com propósitos de não provocarem aumento de temperatura e, quando associados à fotossensibilizadores podem produzir morte microbiana. Este processo é conhecido por Terapia Fotodinâmica ou PDT (YAMADA, 2009).

Os comprimentos de onda (ou cor de luz) mais empregados para realizar a laserterapia de baixa intensidade estão na faixa do vermelho (630 a 700nm) e infravermelho (700 a 904 nm) (LIZARELLI, 2005). Uma fonte de luz alternativa para a terapia fotodinâmica são os leds, que também são monocromáticos e se diferem dos lasers por terem seu feixe de luz divergente e que surgem como uma nova opção (BAROLET, 2008; SOUSA, 2002), pois estas fontes de luz são mais baratas, pequenas, leves e altamente flexíveis (KONOPKA e GOSLINSKI, 2007).

Sousa (2002) demonstrou que não houve diferença na utilização do laser ou led (ambos possuíam potência de saída do feixe em torno de 100mW +-2nm).

Jori e Brown (2004) ressaltam que a terapia fotodinâmica pode ser aplicada no tratamento de doenças causadas por bactérias, vírus e parasitas, bem como na esterilização de sangue e outros produtos.

Na terapia periodontal a PDT vem apresentando vantagens como redução do tempo de tratamento, não precisar de anestesia, destruição de bactérias num período de tempo muito curto, improvável desenvolvimento de resistência pelas bactérias alvo, sem danos aos tecidos adjacentes do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2007). Pode ser aplicada em áreas de difícil acesso como furcas, invaginações profundas e concavidades (ALMEIDA et al., 2007), tornando-se um complemento na terapia convencional de raspagem e alisamento radicular, pois emprega um protocolo rápido e simples que permite eliminar as bactérias ou inativar fatores de virulência deixados para trás após a raspagem e alisamento radicular. Pode ser utilizada durante terapia inicial e de manutenção de periodontites (RAGAVENDRA et al., 2009) e periimplantites (TAKASAKI et al., 2009).

Além de eliminar, importantes fatores de virulência de bactérias Gram negativas como proteases e endotoxinas são diminuídos pela PDT, é o que verificou Komerik (2000). Para Wilson (2004) isto representa uma vantagem considerável sobre os antimicrobianos e antisépticos, pois a maioria destes agentes somente elimina os organismos infectantes e não são efetivos nos fatores de virulência que são produzidos por eles. Lipopolissacarídeos (LPS) e enzimas proteolíticas podem continuar a exercer seus efeitos adversos sobre o hospedeiro por longo tempo mesmo após o microrganismo ter sido morto pelo antibiótico.

Uma estreita relação entre a absorção do corante e o comprimento de onda deve ser observada na utilização da PDT. O comprimento de luz, absorção do fotossensibilizante, energia, intensidade e tempo de exposição da luz podem

influenciar nos resultados, assim como a presença do fluido crevicular gengival, sangue e estrutura do biofilme (PRATES et al., 2006). Almeida et al. (2007) ainda ressaltam a concentração da droga, pH do meio, presença do exudato e saliva. Portanto, para a PDT ser bem sucedida é essencial selecionar um fotossensibilizante não-tóxico, capaz de alta absorção no comprimento de luz utilizado para ter uma grande eficácia bactericida (PINHEIRO et al., 2010).

Na literatura revisada, o TBO (um corante fenotiazida) juntamente com laser de baixa potencia (635nm a 660nm) mostrou ser eficaz na redução de periodontopatógenos como *Porphiromonas gingivalis*, *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermédia* e *Streptococcus sanguis* (KOMERIK, 2003; LUAN et al. 2009; QIN et al. 2007; SOUSA, 2002; WILSON et al. 1992). Ainda nos mesmos estudos de Komerik, Luan, Qin e Sousa foram avaliados os efeitos do corante nos tecidos (utilizaram 1mg/ml de TBO) e todos não encontraram efeitos tóxicos relacionados com o fotossensibilizante. Para Luan e Qin estes resultados confirmam a segurança da aplicação tópica de PDT com fenotiazida e apóiam sua aplicabilidade no tratamento periodontal.

Ribeiro e Zezell (2004) relatam que a luz vermelha ou azul pode ser empregada na PDT para inativar bactérias patogênicas que sintetizam porfirinas, cromóforos naturais, sem utilizar um fotossensibilizador externo. Fucui et al (2008) demonstraram em seu estudo que um comprimento de luz azul de 405 nm sem uso de corante foi sensível na redução de *P. gingivalis*.

As bactérias Gram positivas podem facilmente absorver moléculas como fotossensibilizantes e a maioria podem ser fotoativadas por corantes utilizados para PDT. No entanto, este não é o caso das bactérias Gram negativas que são

relativamente impermeáveis devido à sua alta superfície carregada negativamente (JORI e BROWN, 2004). Entretanto, tentativas estão sendo feitas para aumentar a permeabilidade da membrana de bactérias Gram negativas usando substâncias ativadoras de membrana ou sensibilizantes especiais carregados positivamente que se ligam mais facilmente à membrana da bactéria (PFITZNER et al. 2004; RAGHAVENDRA et al. 2009).

Soukos et al. (2003) relatam em seus estudos que a aplicação do conjugado de poli-L-lisina aumentou a penetração do fotossensibilizador aumentando a ação da terapia fotodinâmica.

Andersen et al. (2007), Braun et al. (2008) em estudos com pacientes com periodontite crônica, observaram que a PDT mostrou melhorias nos níveis de inserção e diminuição na profundidade da bolsa podendo ser utilizada em associação com o tradicional método de tratamento periodontal como raspagem e alisamento radicular.

Oliveira et al. (2007) num estudo com 10 pacientes com periodontite agressiva, mostraram que tanto a PDT quanto a raspagem e alisamento radicular tiveram resultados clínicos semelhantes no tratamento periodontal não cirúrgico, mas consideraram o tamanho da amostra pequena necessitando de estudos com amostras maiores para confirmar resultados. E Yamada (2007) relata que a redução de *A. actinomycetemcomitans* pela terapia fotodinâmica coadjuvante à terapêutica convencional, diminui a possibilidade de se indicar uma intervenção cirúrgica ou a aplicação de uma terapêutica medicamentosa.

Christodoulides et al. (2008) e Chondros et al. (2009) num desenho de estudo semelhante em pacientes com periodontite crônica, investigaram o efeito da PDT como adjuvante no tratamento periodontal convencional não cirúrgico. Avaliaram as

características clínicas e microbiológicas de 24 pacientes, ambos acharam que não houve melhorias estatisticamente significantes na adição da PDT utilizando um único episódio de PDT, mas resultou numa diminuição do sangramento à sondagem em comparação com a raspagem e alisamento radicular sozinho. Sigusch et al (2005) também relata uma diminuição nos sinais inflamatórios (vermelhidão e sangramento) num estudo em cão utilizando corante cloro e6, BLC 1010 com laser de baixa intensidade e o corante cloro e6 suprimiu significativamente as *P. gingivalis*.

Pinheiro (2010) num estudo com PDT observou redução do número total de bactérias viáveis em bolsas periodontais em pacientes com periodontite crônica. Os autores concluíram que é possível o uso de PDT após raspagem radicular visando o controle microbiano periodontal e menor uso de antibióticos.

4 CONCLUSÃO

1- A ação antimicrobiana do PDT se dá pela associação de uma fonte de luz (laser ou leds) com um corante numa concentração e dose adequadas que levam à morte de bactérias e inativação de fatores de virulência.

2-PDT pode representar uma terapia viável de redução bacteriana, mesmo em bactérias resistentes a antibióticos, auxiliando no tratamento da doença periodontal em conjunto com raspagem e alisamento radicular.

3- PDT apresenta várias vantagens na terapia periodontal como redução do tempo de tratamento, dispensar o uso de anestesia, destruição de bactérias num período de tempo muito curto, improvável desenvolvimento de resistência pelas bactérias alvo, ausência de danos aos tecidos adjacentes do hospedeiro.

4- Pode ser aplicada em áreas de difícil acesso como furcas, invaginações profundas e concavidades, podendo ser um complemento na terapia convencional de raspagem e alisamento radicular, bem como na terapia periodontal de suporte.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.M. et al. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J. Periodontol.** , v.78, n.3, p.566-575, Mar., 2007.
- ANDERSEN, R.; LOEBEL, N.; HAMMOND, D. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planning. **J. Clin. Dent.** , London, v.18, p.1-5, 2007.
- AOKI, A. et al. Laser in nonsurgical periodontal therapy. **Periodontology 2000**, v. 36, n.1, p.59-97, 2000.
- ARMITAGE, G. C. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v.53, p.70-88, 2010.
- BAROLET, D. Light-Emitting Diodes(LEDs) in dermatology. **Semin. Cutan. Med. Surg.** , v.27, p. 227-238, 2008.
- BRAUN, A. ;DEHN, C. ;JEPSEN, S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment : a randomized clinical trial. **J. Clin. Periodontol.** , Germany, v.35, p.877-884, 2008.
- CHRISTODOULIDES, N. et al. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. **J. Periodontol.** , v.79, n.9, p.1638-1644, Sept., 2008.
- CHONDROS, P. et al. Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. **Laser Med. Sci.**, v.24, p.681-688, May, 2009.
- EZZO, P.J.; CUTLER, C.W. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. **Periodontology 2000**, v.32, p.24-35, 2003.
- FERNANDES, L.A. et al. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in immunosuppressed rats. **J. Clin. Periodontol.** , v.35, p.219-228, 2009.
- FLEMMIG, T. F. Periodontitis. **Ann. Periodontol.** , v.4, n.1, p.32-37, Dec., 1999.
- FUCUI, M. et al. Specific-wavelength visible light irradiation inhibits bacterial growth of *Porphyromonas gingivalis*. **J. Periodont. Research**, v.43, p.174-178, 2008.
- ARMITAGE, G.C. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive. **Periodontology 2000**, v.53, p.70-88, 2010.
- GUTKNECHT, N. FRANZEN, R. O Laser: função, interação e segurança. In: GUTKNECHT, N. EDUARDO, C.P. A Odontologia e o Laser: atuação do laser na especialidade odontológica. São Paulo: Quintessence, 2004, cap.3, p.25-37.

ISHIKAWA, I.; BAEHNI, P. Nonsurgical periodontal therapy –where to we stand now? **Periodontology 2000**, v.36, p.9-13, 2004.

JORI, G.; BROUWN, S.B. Photosensitized inactivation of microorganisms. **Photochem. Photobiol. Sci.**, V.3, p.403-405, Apr., 2004.

JORI, G. et al. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. **Lasers Surg. Med.**, Italy, v.38, p.468-481, 2006.

JUNIOR, A.M.Y. Estudos dos efeitos da terapia fotodinâmica em periodontite induzida em ratos. 2007.91f. Tese (Doutorado em ciências na área de tecnologia nuclear, materiais)-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

KARU, T.I. Low-power laser therapy. In: DINH, T.V. Biomedical Photonics Handbook, USA: CRC Press, cap.48, p.1-25, 2003.

KINANE, D.F. Causation and pathogenesis of periodontal disease. **Periodontology 2000**, v.25, p.8-20, 2001.

KOMERIK, N.; WILSON, M.; POOLE, S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of Gram-negative bacteria. **Photochem. Photobiol.**, v.72, p.676-680, 2000.

KOMERIK, N. et al. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. **Antimicrob. Agents Chemother.** v.47, n.3, p.932-940, Mar., 2003.

KONOPKA, K.; GOLINSKI, T. Photodynamic therapy in dentistry. **J. Dent. Res.**, v.86, n.8, p.694-707, June, 2007.

LOOMER, P.M. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. **Periodontology 2000**, v.34, p.49-56, 2004.

LIZARELLI, R.F.Z. Protocolos clínicos odontológicos: uso do laser de baixa intensidade, 2. ed. , São Paulo: Bons Negócios, 2005, p.21-25.

LUAN, Y.L. et al. Histological evaluation of the safety of toluidine blue-mediated photosensitization to periodontal tissues in mice. **Lasers Med. Sci.**, China, v.24, p.162-166, Feb., 2009.

LULIC, M. et al. One-year outcomes of reated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. **J. Clin. Periodontol.** , v.36, p.661-666, 2009.

MEISEL, P.; KOCHER, T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. **J. Photochem. Photobiol.**, v.79, p.159-170, 2005.

NISHIHARA, T.; KOSEKI, T. Microbial etiology of periodontitis. **Periodontology 2000**, v.36, p.14-26, 2004.

- OLIVEIRA, R. R. et al. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis : a preliminary randomized controlled clinical study . **J. Periodontol.** , v.78, n.6, p.965-973, June, 2007.
- PINHEIRO, S. et al. Capacity of photodynamic therapy for microbial reduction in periodontal pockets. **Lasers Med. Sci.**, v.1, n.25, p.87-91, Jan., 2010.
- POLANSKY, R. et al. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. **J. Clin. Periodontol.** , v.36, p.575-580, 2009.
- PRATES, R.A. et al. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **J. Photochem. Photobiol.** , v.86, p.1-6, Jul., 2006.
- PFITZNER, A. et al. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. **J. Periodontol.** , Germany, v.75, n.10, p.1343-1349, Oct. 2004.
- QIN, Y.L. et al. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. **J. Periodont. Res.**, v.43, p.162-167, 2008.
- RAGHAVENDRA, M.; KOREGOL, A.; BHOLA, S. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. **Australian Dental Journal**, v.54, p.102-109, 2009.
- READY, D. et al. Disease severity associated with presence in subgingival, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Tannerella forsythia*, singly or in combination as detected by nested multiplex PCR. **J. Clin. Microbiol.** , v.46, n.10, p.3380-3383, Oct. , 2008.
- RIBEIRO, M.S.; ZECELL, D.M. Laser de Baixa Intensidade. In: GUTKNECHT, N. EDUARDO, C.P. A Odontologia e o Laser: atuação do laser na especialidade odontológica. São Paulo: Quintessence, 2004, cap.5, p.217-233.
- SIGUSCH, B.W. et al. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. **J. Periodontol.** Germany, v.76, n.7, p.1100-1105, July, 2005.
- SILVEIRA, L.B. Verificação do comportamento de mastócitos na parede não mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea submetida à radiação laser de baixa intensidade. Estudo in anima móbile. 2001.109f. Dissertação (Mestrado em Laser em Odontologia)- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- SLOTS, J.; JORGENSEN, M.G. Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we there yet? **Periodontology 2000**, v.28, p.298-312, 2002.
- SOUKOS, N.S. et al. Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photomechanical waves in an oral biofilm model. **Lasers Surg. Med.** , Boston, v.33, p.161-168, 2003.
- SOUSA, G.R. Análise comparativa da emissão de luz por led e lasers emitindo no vermelho do espectro eletromagnético na redução bacteriana de bactérias periodontopatogênicas: estudo

in vitro. 2007.123f. Tese (Doutorado em engenharia mecânica)- Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais , Belo Horizonte ,2007.

TAKASAKI, A.A. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal an peri-implant diseases. **Periodontology 2000**, v.51, p.109-140, 2009.

UMEDA, M. et al. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. **Periodontology 2000**, v.36, p.98-120, 2004.

WILSON, M. Lethal photosensitization of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. **Photochem. Photobiol.** , London, v.3, p.412-418, 2004.

