

MICHELLE DE FRANCO RODRIGUES

Terapia fotodinâmica como método complementar ao tratamento não cirúrgico da Periodontite Crônica em fumantes. Um ensaio clínico aleatório controlado

São Paulo

2014

MICHELLE DE FRANCO RODRIGUES

Terapia fotodinâmica como método complementar ao tratamento não cirúrgico da Periodontite Crônica em fumantes. Um ensaio clínico aleatório controlado

Versão Original

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Giorgio De Micheli

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Rodrigues, Michelle de Franco.

Terapia fotodinâmica como método complementar ao tratamento não cirúrgico da Periodontite Crônica em fumantes: um ensaio clínico controlado / Michelle de Franco Rodrigues; orientador Giorgio de Micheli. -- São Paulo, 2014.

53 p. : il. : fig. , tab. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Periodontia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original.

1. Periodontite crônica. 2. Doenças periodontais. 3. Tabagismo – Odontologia.
4. Terapia fotodinâmica. I. Michele, Giorgio de. II. Título.

Rodrigues MF. Terapia fotodinâmica como método complementar ao tratamento não cirúrgico da Periodontite Crônica em fumantes. Um ensaio clínico aleatório controlado. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas ou Odontologia.

Aprovado em: / /2015

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*Dedico este trabalho a Deus,
por permitir a realização de um sonho.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Giorgio De Micheli, por ter me acolhido como estagiária em 2005 na especialização e pela oportunidade de ingressar no mestrado na Periodontia. Obrigada pela orientação, carinho e atenção com este trabalho e comigo.

À Profa. Marina Clemente Conde, por ter sido a minha orientadora desde o curso de especialização, por ter acreditado no meu potencial como aluna e profissional e por dedicar seu tempo a me auxiliar, tirar dúvidas e desenvolver esse projeto juntas. Agradeço muito seus ensinamentos, apoio e paciência.

Ao Prof. Claudio Mendes Pannuti, por todos os ensinamentos, tanto nas atividades acadêmicas do mestrado, quanto no projeto com suas sugestões e principalmente pela contribuição na análise estatística. Obrigada professor por ter permitido que através de seus conhecimentos eu pudesse evoluir como profissional.

À Vanessa Tubero e Verônica Carvalho pela atenção e amizade desde o início do meu mestrado até o final dele, sempre me ensinando muito e sempre dispostas a me ajudar em qualquer situação. Agradeço imensamente a vocês por me auxiliarem nessa jornada.

A Priscila Vivas que foi uma amiga muito querida que dividiu comigo todas as alegrias e tristezas e é responsável por essa conquista. Foi um trabalho árduo, mas conseguimos.

Às fotodinâmicas, sem elas o trabalho jamais conseguiria ser realizado, meu agradecimento especial a Ananda Fini por estar presente em toda a parte clínica do projeto e também do piloto, Donata Souza, Amália Cataruci, Andresa Gonçalves e Camila de Luca, meninas, muito obrigada por toda a ajuda na condução do estudo.

Aos amigos da pós-graduação: Mariana Rocha, Mariana Rabelo, Adriana Foz, Henrique Bueno, Marcelo Sirolli, Mafra, Ieda Abreu, Vanessa Almeida, Daniela Takahashi, Henrique Fukushima, Stefania Possamai, Isabela Brito, Gislene Sakata, Cissa, Hilana, Débora e Ana Paula Sassá por toda a evolução juntos. Torço muito pelo sucesso de cada um de vocês.

Aos Professores: Edgard Michel Crosato e João Batista César Neto pelas contribuições no exame de qualificação.

Aos Professores da Disciplina de Periodontia da Fousp: Giuseppe Alexandre Romito, Luiz Antonio Pugliese Alves de Lima, Marinella Holzhausen Caldeira, Luciana Saraiva, Marco Antônio Paupério Georgetti, Cristina Villar, por todo o conhecimento transmitido durante o mestrado.

Às secretárias: Márcia Maria dos Santos, Marília Camargo, Cecília Forte Muniz e Nina Mascarenhas por sempre serem pessoas tão especiais, queridas e dispostas a me ajudar com as questões burocráticas.

Aos Professores da Banca Examinadora, agradeço por terem aceitado o convite e por enriquecerem esse trabalho com suas sugestões e críticas.

Aos pacientes que participaram do estudo, pela confiança no trabalho de nossa equipe.

À FAPESP pelo auxílio a esta pesquisa. (2013/0073-5).

À CAPES pela bolsa de mestrado.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, Lourdes e Paulo por acreditarem em mim e não me deixarem desistir nos momentos difíceis.

Ao meu irmão William por compartilhar os meus sonhos e acreditar neles.

Aos meus familiares e amigos pela paciência, compreensão e incentivo nessa trajetória.

RESUMO

Rodrigues MF. Terapia fotodinâmica como método complementar ao tratamento não cirúrgico da Periodontite Crônica em fumantes. Um ensaio clínico aleatório controlado. [Dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Original.

Indivíduos fumantes apresentam maior prevalência, severidade e recidivas de doença periodontal, constituindo-se um desafio terapêutico. O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia da Terapia Fotodinâmica (PDT), como terapia complementar ao tratamento não-cirúrgico de pacientes fumantes, portadores de periodontite crônica, por meio de avaliação de parâmetros clínicos periodontais. Um ensaio clínico aleatório controlado de boca dividida foi conduzido para avaliar 35 pacientes com periodontite crônica que foram submetidos ao tratamento periodontal convencional. Dois sítios contra-laterais em cada indivíduo receberam PDT ou procedimento controle (sham). A intervenção foi feita no início do estudo, 3, 6 e 12 meses. Os parâmetros clínicos foram avaliados no início, 3, 6 e 12 meses após o tratamento. Todos os parâmetros clínicos avaliados apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo de estudo, porém não foram apresentadas diferenças entre os grupos. Dentro da metodologia utilizada neste estudo, não foi possível afirmar que a terapia fotodinâmica foi eficaz na complementação do tratamento periodontal convencional em indivíduos fumantes.

Palavras-chave: Doenças periodontais, Tabagismo, Laser

ABSTRACT

Rodrigues MF. Terapia fotodinâmica como método complementar ao tratamento não cirúrgico da Periodontite Crônica em fumantes. Um ensaio clínico aleatório controlado [dissertation] São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Original.

Tobacco smokers patients present higher prevalence, severity and reincidence of destructive periodontal diseases. The aim of this study is to verify the effectiveness of the Photodynamic Therapy (PDT) as complementary therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis in tobacco-smoker patients by assessing clinical periodontal parameters. A controlled randomized double-blind split-mouth clinical trial was performed to assess 35 periodontal patients with chronic periodontitis will be who received conventional periodontal treatment. Two bilateral sites in each individual received the application of PDT or the control procedure (sham). The intervention was performed at baseline, 3, 6 and 12 months. The clinical parameters was evaluated at baseline, 3, 6, and 12 months after treatment. All clinical parameters showed significant improvement during the study, but there was no significant difference between groups. Considering the methodology that was used, it was not possible to conclude that PDT was efficient as adjunctive for conventional periodontal treatment in smokers individuals.

Keywords: Periodontal diseases. Laser. Photodynamic therapy. Inflammation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Modelo experimental do estudo	24
Figura 4.2 - Medida do PCS	25
Figura 4.3 - Fotossensibilizador dispensado na bolsa periodontal	27
Figura 4.4 - Irradiação com o laser.....	28
Figura 5.1 - Diagrama do recrutamento e acompanhamento dos indivíduos	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1	Características dos indivíduos	32
Tabela 5.2	Parâmetros Clínicos Boca Toda.....	33
Tabela 5.3	Parâmetros Clínicos Lado teste e Lado controle.....	34
Tabela 5.4	Escala EVA	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
EVA	Escala visual analógica
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
IPV	Índice de placa visível
NCI	Nível Clínico de Inserção
SS	Sangramento à sondagem
PCS	Profundidade clínica de sondagem
PDT	Terapia Fotodinâmica
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>T. forsythia</i>	<i>Tanerella forsythia</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

mm	milímetro
mW	miliwatt
nm	nanômetro
%	porcentagem
\geq	maior que
\leq	menor que
s	segundo
J/cm ²	joule por centímetro quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
5 RESULTADOS	31
6 DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXOS	44

1 INTRODUÇÃO

O acúmulo de biofilme nas superfícies dentais é capaz de produzir uma reação inflamatória nos tecidos periodontais, denominada Doença Periodontal (Løe et al., 1965; Socransky;Haffajee 2002). Para tratar essa doença é necessária a eliminação dos microorganismos periodontopatogênicos presentes neste biofilme, bem como a eliminação dos fatores que facilitam o acúmulo deste através de raspagem e alisamento radicular (Kaldahl et al., 1996; Claffey et al; 1990). Esse rigoroso controle realizado tanto pelo profissional, quanto pelo paciente previne a recolonização das superfícies dentais pelos microorganismos do biofilme. (Quirynen et al., 2005).

A Academia Americana de Periodontologia (1999) destaca o tabagismo como um dos principais fatores de risco para a prevalência, progressão e severidade das periodontites crônica e agressiva. Estudos epidemiológicos nos EUA (NHANES III) revelam que fumantes apresentam quatro vezes mais risco de desenvolver periodontite do que não fumantes (Tomar; Asma, 2000). Neste estudo, foi possível avaliar que cerca de 42% dos casos de periodontite poderiam ser atribuídos ao hábito de fumar e outros 11% estavam relacionados ao hábito prévio do tabagismo (ex-fumantes). Esses dados são reafirmados por outros estudos (Bergström et al., 2000; Haffajee; Socransky, 2001; Chen et al., 2001).

A abordagem terapêutica que consiste na instrumentação da superfície radicular se mostrou menos eficaz em indivíduos fumantes (Grossi et al., 1996), uma das causas é a persistência dos periodontopatógenos como o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis*, encontrados em bolsas residuais de pacientes fumantes (Van Winkelhoff et al., 2001) e outra causa é a possibilidade de invasão tecidual por parte desses microorganismos, principalmente o *A.a.* (Adriens et al., 1998; Quirynen et al, 2001; Rateitschak et al., 1992). A persistência dessas espécies bacterianas pode facilitar a recolonização e com isso induzir a recidiva da doença periodontal. (Petersilka et al., 2002; Cobb, 2002).

O ambiente favorável para que ocorra a recolonização dessas espécies é a bolsa periodontal com sítios maiores ou iguais a 5 mm, isso leva a uma maior possibilidade de perda de inserção (Westfeld et al., 1988) e de perda do elemento

dentário (Claffey, Egelberg, 1995; Renvert; Persson, 2002; Matuliene et al., 2008). Por isso, muitas vezes durante o tratamento periodontal, são necessários procedimentos complementares como cirurgias para redução de bolsas (Pedrazzoli et al., 1991) e a utilização de antimicrobianos como propôs o estudo de Van Winkelhoff et al., (1996).

Contudo, a terapia cirúrgica em indivíduos fumantes não é mais tão indicada por ter demonstrado resultados menos favoráveis quanto ao ganho de inserção e melhora dos parâmetros clínicos nos pacientes fumantes. (Scabbia et al., 2001)

Já a antibioticoterapia sistêmica, indicada para complementar o tratamento periodontal a fim de eliminar os microorganismos persistentes nos tecidos após a instrumentação (Socransky , Haffajee, 2002), tem suas limitações de indicação devido a efeitos colaterais, indução a resistência bacteriana e limitação ao penetrar na matriz extracelular do biofilme dental (Herrera et al., 2008). O uso de antibióticos locais, inseridos na bolsa periodontal, poderia ser uma alternativa de complementação do tratamento, porém estudos não demonstraram benefícios adicionais nos parâmetros clínicos (Ratka- Krüger et al., 2005; Cortelli et al., 2006; Paolantonio et al., 2008; Bogren et al., 2008, Tomasi et al., 2008).

Foi então que surgiu a Terapia Fotodinâmica como uma alternativa de complementação dos procedimentos periodontais básicos, na busca pela redução bacteriana e melhora dos parâmetros clínicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A terapia fotodinâmica utiliza o mecanismo da associação da luz laser a um corante, o fotossensibilizador. O biofilme é impregnado pelo agente fotossensibilizante que, quando irradiado, se torna excitado. A reação gera energia, a qual é transferida às moléculas de oxigênio da célula bacteriana. O oxigênio singlete e radicais livres formados são altamente reativos e capazes de destruir sistemas biológicos, levando à morte celular (Meisel & Kocher, 2005). Dessa maneira, a PDT pode ser empregada para uma melhor desinfecção da superfície radicular.

Para comprovar a eficácia dessa terapia, foram realizados estudos *in vitro* como o de (Dobson; Wilson, 1992; Sarkar; Wilson, 1993), que mostraram que o oxigênio singlete é capaz de agir diretamente nas moléculas da matriz extracelular do biofilme, degradando polissacarídeos, deixando os microrganismos vulneráveis ao efeito fotoquímico, diferentemente dos antibióticos que tem dificuldade de penetrar na matriz. (Soukos et al., 2003; Konopka; Goslinski, 2007).

Os corantes azul de metileno, azul de toluidina e verde de malaquita, atuam como agentes fotossensibilizadores capazes de provocar morte celular de periodontopatógenos como *A. actinomycetencomitans*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* por meio da PDT. (Wilson et al., 1993; Chan; Lai, 2003; Souza, 2007; Qin et al. 2008).

Wilson et al., 1993 avaliaram amostras de placa subgengival de pacientes com periodontite crônica, foi utilizado o laser na presença ou ausência de 50µg/ml de azul de toluidina. A associação fotossensibilizador/laser conseguiu redução significativa na, *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, o que não foi observado na presença do fotossensibilizador sem irradiação, justificando a necessidade do laser na PDT, além disso nesse mesmo estudo, o azul de metileno se mostrou o fotossensibilizador que mais atuou no processo de redução bacteriana, dados apresentados pelo estudo de Matevski et al.,(2003), onde o azul de metileno atuou como o fotossensibilizador com maior potencial bactericida.

O agente fotossensibilizador quando empregado sem a irradiação do laser não consegue produzir efeito bactericida, estudos demonstraram que seu efeito se dá em combinação com o emprego do laser, que leva a produção de substâncias

citotóxicas que podem destruir células de maneira seletiva. (Sarkar; Wilson, 1993; Qin et al., 2008).

Já os estudos em animais também demonstraram redução de periodontopatógenos (Kömerick et al., 2003; Sigusch et al., 2005; Almeida et al., 2007), e a segurança da utilização desse método como complementação do tratamento periodontal básico, pois não apresentou injúria aos tecidos.

Cargnelutti (2007) observou uma redução significativa da atividade osteoclástica, tanto em ratos tratados com tratamento mecânico quanto em ratos tratados com PDT.

O uso do laser de baixa intensidade atua como biomodulador (Woodruff et al., 2004; Damante et al., 2008; Almeida-Lopes et al., 2001; Garcia et al., 2010; Sperandio et al., 2010). Numa meta-análise realizada sobre a reparação tecidual pelo laser de baixa intensidade houve reparação através da aceleração da síntese de colágeno, da redução da inflamação e do estímulo da proliferação de fibroblastos gengivais, dependendo da dose de energia aplicada (Woodruff et al., 2004). Prates et al. (2011) demonstraram, em ratos, que a PDT promoveu melhor reparação periodontal, observada pela organização de colágeno, infiltrado inflamatório e perda óssea. Qin et al. (2008) mostraram menor infiltrado inflamatório no grupo que recebeu PDT, em relação ao grupo de ratos que recebeu apenas raspagem.

Os dados obtidos com os estudos em animais, suportam a idéia da eficiência e segurança do uso da PDT em pesquisas com humanos.

Nos estudos em humanos, a associação da PDT ao tratamento convencional de bolsas periodontais foi analisada por Andersen et al. (2007), Christodoulides et al. (2008), Braun et al. (2008), Lulic et al. (2009), Polansky et al. (2009), Sigushi et al. (2010). Diante dos resultados clínicos presentes na literatura até o momento, pode se observar que ainda não existe consenso sobre a eficácia da aplicação da PDT como coadjuvante ao tratamento da periodontite crônica, analisado em longo período por dados clínicos e microbiológicos e imunológicos, com métodos quantitativos reprodutíveis. Nenhum dos estudos acima analisa especificamente indivíduos fumantes. Considerando a eficácia da PDT contra *F nucleatum* (Sigushi et al., 2010), o qual é predominante em sítios periodontais de fumantes, a PDT parece ser promissora como terapia antimicrobiana complementar.

AL-Zahrani e Austah., 2011, conduziram um trabalho clínico de boca dividida onde 20 indivíduos foram submetidos a raspagem (grupo controle) e raspagem com

PDT (grupo teste). Esses indivíduos foram avaliados 3 meses após o tratamento quanto aos parâmetros clínicos e observou-se redução significativa da PCS, SS e NCI nos dois grupos. Em comparação entre os indivíduos que receberam somente raspagem e os que receberam raspagem com PDT, no baseline não houve diferença, porém no tempo de 3 meses houve diferença estatística importante, o que levou a conclusão de que o PDT pode ser um método complementar ao tratamento periodontal convencional.

Demais estudos clínicos trazem resultados controversos em relação aos benefícios do uso da PDT como coadjuvante ao tratamento periodontal, observado em revisões sistemáticas sobre o tema (Atieh, 2010; Azarpazhooh et al., 2010; Sgolastra et al., 2013). Christodoulides et al., 2008; Polansky et al., 2009; Lulic et al., 2009; Sigushi et al., 2010; Cappuyns et al., 2012), o sistema Helbo Blue® (Helbo Photodynamic Systems GmbH, Grieskirchen, Austria) de PDT, que usa como agente fotossensibilizante o cloridrato de fenotiazina a 10mg/ml e um laser diodo emitindo luz em 670nm. Outro sistema é o chamado Periowave® (Ondine Biopharma Corporation, Vancouver, BC, Canada) que emprega azul de metileno a 1mg/ml e laser emitindo luz em 660nm (Andersen et al., 2007; Ge et al., 2011; Müller Campanile et al., 2013). Esses trabalhos não mostraram benefícios para os parâmetros clínicos dos pacientes.

Os ensaios clínicos nacionais (Theodoro et al., 2012) utilizaram o Biowave® (Kondortech Equipment, São Carlos, SP, Brasil) que emite laser de 660nm, potência 30 mW por 150s por sítio, associado ao azul de toluidina a 0,1mg/ml para tratamento periodontal inicial coadjuvante a raspagem. Os autores não observaram benefícios clínicos adicionais do emprego da PDT, e observaram menor redução de patógenos periodontais com 180 dias de avaliação.

Campos et al. (2013) empregaram o Theralase® (DMC, São Carlos, SP, Brasil), numa potência de 60mW, emitindo luz a 660 nm, associado ao azul de metileno a 10mg/ml para tratamento de bolsas residuais, e obtiveram bons resultados clínicos no grupo que recebeu PDT adjuvante ao tratamento convencional. Balata et al. (2013) empregaram outro sistema da DMC, o Photon Lase III® (DMC, São Carlos, SP, Brasil) que emite laser num comprimento de onda de 660 nm, potência 100mW utilizado por 60 s por sítio, associado ao azul de metileno numa concentração de 0,005%. Os autores não observaram efeitos adicionais do emprego da PDT nos 1, 3 e 6 meses de avaliação.

Oliveira et al. (2007) empregaram o sistema Helbo Blue® comparado a um grupo que recebeu raspagem no tratamento de periodontite agressiva. Não houve diferença significativa nesse estudo.

No estudo mais recente de PDT em indivíduos fumantes desenvolvido em 2013, Queiroz e colaboradores avaliaram clinicamente o efeito do tratamento periodontal não-cirúrgico sozinho no grupo controle e com a aplicação de PDT como complementar ao tratamento. Os dois grupos apresentaram redução nos parâmetros clínicos, porém não ocorreram diferenças significativas entre os dois grupos. Como o estudo foi feito num único momento, os autores enfatizaram a necessidade de mais estudos com acompanhamento após a aplicação da terapia fotodinâmica.

Diante de todos os estudos apresentados, até o momento não existe evidência na literatura que demonstre a possibilidade de se afirmar que a PDT seja um método eficaz como coadjuvante no tratamento periodontal por longos períodos e com métodos reprodutíveis.

3 PROPOSIÇÃO

Objetivo geral

Verificar a eficácia da Terapia Fotodinâmica como terapia complementar ao tratamento de bolsas periodontais em indivíduos fumantes.

Objetivos específicos

Avaliar, por 12 meses, parâmetros clínicos periodontais após a Terapia Fotodinâmica em bolsas periodontais de indivíduos fumantes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir, as etapas do desenvolvimento do estudo.

4.1 Delineamento do estudo

O presente estudo é parte integrante de linha de pesquisa da Disciplina de Periodontia da FOU SP sobre o uso de laser na terapêutica periodontal (Feist et al. 2003; Casseb et al. 2004; Andrade et al., 2005; Andrade et al., 2008; Damante et al., 2008) e conta com um projeto recentemente concluído: projeto de pesquisa de mestrado do aluno Marcio Seto Yu Yuen, (processo **FAPESP**: 05/59241-0) que avaliou a redução microbiana em portadores de Periodontite Crônica com a utilização do laser de alta intensidade, e dois projetos em andamento, das alunas Verônica Carvalho (doutorado) e Priscila Vivas (mestrado), que avaliam clínica, microbiológica e imunologicamente a PDT em sítios periodontais residuais em indivíduos sistemicamente saudáveis (processos **FAPESP**: nº 09/53934-5 e nº 2010/20157-3). Seguindo esta linha de pesquisa, o presente estudo propõe aplicar a PDT em sítios de indivíduos fumantes como complemento ao tratamento periodontal convencional (através de raspagem supra e subgengival).

Este trabalho foi delineado como um ensaio clínico aleatório controlado, duplo-cego em boca dividida. Para o cálculo amostral considerou-se clinicamente relevante uma diferença entre os grupos de 1,0 mm no Nível Clínico de Inserção (NCI). Utilizando um poder de 80% para detectar essa diferença, um nível de significância de 5%, empregando-se um teste bicaudal e esperando-se um desvio padrão de 1,5 mm em NCI, serão necessários 35 sujeitos. Para compensar perdas durante o seguimento dos participantes, foram recrutados 41 indivíduos para tratamento.

Os sujeitos da pesquisa foram incluídos consecutivamente de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Estes procuraram previamente atendimento odontológico nas Clínicas da Disciplina de Periodontia da FOU SP.

Critérios de inclusão

- Portadores de Periodontite Crônica Severa – presença de perda de inserção proximal ≥ 5 mm em $\geq 30\%$ dos dentes presentes (Tonetti; Claffey, 2005)
- Fumantes: mínimo de 10 cigarros/dia, há mais de 2 anos (Nassrawin, 2010)
- Presença de pelo menos 10 dentes na cavidade oral
- Presença de pelo menos dois sítios contralaterais, com profundidade clínica de sondagem (PCS) ≥ 5 mm.

Critério de exclusão

- Necessidade de antibioticoterapia profilática (Wilson et al., 2007)
- Pacientes não-fumantes, diabéticos, imunodeprimidos, gestantes ou lactantes
- Uso de medicação que interfira na reparação dos tecidos periodontais, descrito na literatura
- Tratamento periodontal prévio e/ou uso de antibiótico, nos últimos 6 meses
- Presença de discrepâncias oclusais severas
- Dentes com mobilidade grau II e III, dentes com envolvimento endodôntico, dentes com lesão de furca.

Este protocolo de pesquisa foi delineado de acordo com os critérios de um ensaio clínico do CONSORT Statement (Schulz et al., 2010).

4.2 Aspectos Éticos

Este projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em pesquisa da FOU SP (protocolo 201/10 - CAAE 0027.0.017.000-10 - anexo A). Os indivíduos que participarão deste estudo deverão ler, entender e assinar o termo de consentimento livre-esclarecido aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP (anexo B).

4.3 Modelo experimental

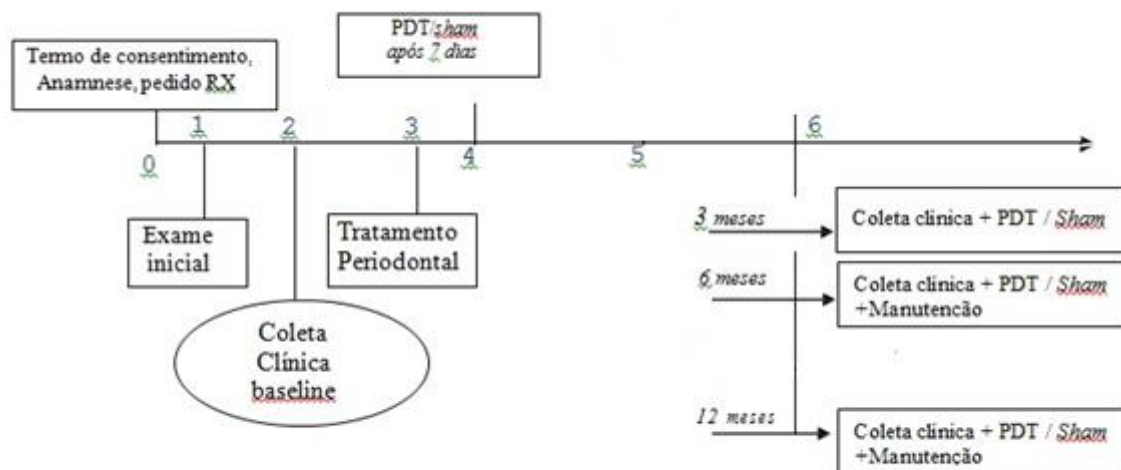


Figura 4.1 - Modelo Experimental

4.4 Coleta de dados clínicos

Os parâmetros clínicos analisados foram: índice de placa visível (IPV) (Ainamo; Bay, 1975), índice de sangramento à sondagem (IS) (Greenstein et al., 1981), profundidade clínica de sondagem (PCS) (Glavind; Løe, 1967), nível clínico de inserção (NCI) (Glavind; Løe, 1967). Para maior precisão na obtenção dos dados

clínicos, foi utilizada uma sonda computadorizada de pressão controlada de acordo com a figura 4.2 (Florida Probe® Florida Probe Corporation – Gainesville, FL, EUA) por um examinador treinado e calibrado. A calibração foi realizada antes do início do estudo (estudo-piloto) e antes dos exames de 6 e 12 meses. Na calibração os pacientes foram reexaminados para as variáveis IPV, IS, PCS e NCI, com um intervalo de uma semana entre os dois exames. A reprodutibilidade dos exames foi verificada por meio do coeficiente de correlação intra-classe para as variáveis contínuas (PCS e NCI) e pelo coeficiente kappa, apresentando 84% e 93% respectivamente de reproductibilidade.



Figura 4.2 - Medida do parâmetro de Profundidade Clínica de Sondagem utilizando a sonda computadorizada

4.4.2 Procedimentos Clínicos

Anamnese completa e encaminhamento para o exame radiográfico (14 radiografias periapicais) foram feitos após a inclusão dos sujeitos da pesquisa. Foi realizada a coleta dos dados clínicos (IPV, IS, PCS, NCI), num periograma completo, de acordo com modelo experimental 4.1.

Subsequentemente foi realizado tratamento periodontal convencional (raspagem e aplainamento coronário-radicular, orientação de higiene bucal, eliminação de fatores que retém placa). Uma sessão de raspagem supra e subgingival preliminar em todos os dentes com aparelho de ultrassom (Mini-Piezon-EMS, Suíça) foi realizada antes de todas as outras sessões.

Os pacientes nessa primeira sessão receberam orientação de higiene bucal, realizada com auxílio de um espelho de mão, a técnica de Bass foi instruída ao paciente com o uso de uma escova convencional macia fornecida na consulta. Escovas interdentais, escovas de tufo e fio dental foram fornecidos também, e o paciente orientado a utilizá-los diariamente de maneira individualizada para cada região. A motivação desse paciente era feita a cada sessão ao longo de seu tratamento.

Também era realizada a remoção dos fatores retentivos de placa como excesso de material restaurador ou próteses mal-adaptadas. As cavidades com cárie foram seladas com materiais obturadores provisórios e elementos dentários condenados foram extraídos.

A raspagem subgingival foi feita em seis sessões (uma para cada sextante) com curetas manuais Gracey 5-6, 11-12, 13-14 e Gracey mini-five (Hu-friedy – SP, Brasil) e o mesmo aparelho de ultrassom com pontas próprias para áreas subgingivais (pontas EMS: DS-011A, DS-16A, DS-003A, DS-011A) por um especialista em periodontia com experiência, até que se obtiveram superfícies dentais livres de cálculo.

Após uma semana do tratamento mecânico radicular os sítios experimentais previamente selecionados, em dentes contralaterais com bolsas de profundidade ≥ 5 mm foram aleatoriamente alocados para lado teste ou controle, de acordo com uma sequência aleatória gerada por computador através do software Random Allocation Software.

Procedimento experimental:

No mesmo indivíduo, havia dois lados: PDT e controle (sham) com diferentes intervenções:

1. LADO PDT (teste): Os dentes foram submetidos à terapia fotodinâmica (PDT), sob isolamento relativo com roletes de algodão:

a. Fotossensibilização: Irrigação subgingival em toda extensão do dente, por meio de seringa descartável desde o fundo da bolsa, com 0,5 ml do fotossensibilizador azul de metileno a 0,005% (Chimiolux®), o qual deverá atuar por 3 min. (tempo pré-irradiação). O excesso de corante extravasado será lavado com água.

b. Irradiação: A ponta ativa do aparelho será posicionada sobre a mucosa gengival de tal modo que o feixe laser incida sobre o tecido e superfície radicular a um ângulo de 90°, com acionamento do aparelho de laser diodo Whitening Lase II (DMC, São Carlos 2013) de 100 mW de potência por 90s, com dose de 320 J/cm², em movimento no sentido ápico-coronário.



Figura 4.3 - O fotossensibilizador é dispensado em uma bolsa periodontal



Figura 4.4 - Irradiação com o laser em uma bolsa previamente irrigada com o agente fotossensibilizante

2. LADO CONTROLE: os dentes receberam irrigação supra-gengival em mesmo volume e pelo mesmo tempo, porém com solução salina. A ponta ativa do aparelho de laser será posicionada da mesma maneira, pelo mesmo tempo, angulação e movimentos utilizados no grupo teste, contudo sem ativação do aparelho (procedimento controle- sham).

Características do equipamento de Laser que será utilizado:

- comprimento de onda: 660 nm
- potência máxima 100 mW, frequência 60 Hz emissão contínua

Devido à perda de energia inerente a fibra óptica do laser e no intuito de padronizar a quantidade de energia aplicada nos sítios estudados, antes de cada aplicação, foi usado um medidor de energia (Laser Check® Coherent Molelectron Portland, EUA).

Um pesquisador foi responsável pela inclusão dos pacientes e alocação aleatória nos grupos experimentais. Outro investigador realizou o procedimento experimental. Um terceiro investigador foi responsável por coletar os dados clínicos, e estava cegado para o procedimento experimental.

4.3 Acompanhamento e Avaliação após tratamento

Após a reavaliação, os indivíduos compareceram a consultas de manutenção periodontal a cada 3 meses, durante 12 meses. Além da avaliação clínica, foram realizados procedimentos de controle de placa supra-gengival, por meio de reorientação de higiene bucal, raspagem de cálculo eventual e polimento com taça de borracha e pasta profilática, em todos os sítios da cavidade bucal. O grupo teste recebeu a PDT nos tempos de 3, 6 e 12 meses e o grupo controle recebeu o procedimento controle.

Este intervalo de tempo de 3 meses foi considerado limite para que não pudesse ocorrer a recolonização subgengival por periodontopatógenos em bolsas periodontais (Sbordone et al., 1990; Drisko 2001; Serino et al., 2001), principalmente porque se tratava de grupos experimentais com PCS \geq 5 mm, onde os indivíduos não tinham acesso adequado para higienização. Neste período, havendo recidiva da doença nos dentes experimentais – caracterizada por perda adicional de inserção clínica (\geq 2mm) verificada entre dois exames – o sujeito poderia ser afastado do estudo e os dentes receberiam retratamento, independentemente da ocorrência de sangramento à sondagem.

Nos momentos experimentais de 3, 6, e 12 meses foram feitas coletas dos parâmetros clínicos (IPV, IS, PCS, NCI), com o intuito de avaliar ao longo do tempo a atuação da PDT quanto a sua eficácia como complementar ao tratamento periodontal.

4.4 Percepção dos efeitos adversos

Através de um questionário de efeitos adversos (ANEXO C) os indivíduos julgaram o nível de desconforto do tratamento, desconforto ao mastigar, edema e dor (escala visual analógica de 0 a 10 - 100 mm), durante as consultas de avaliação clínica e coleta de dados (Tomasi et al., 2008).

A cada visita, um dos investigadores realizou exame extra e intra-oral para verificar a incidência de lesões ou eventos adversos, na cavidade bucal dos participantes. Os participantes também eram arguidos a respeito de possíveis sintomas e reações da consulta anterior.

4.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram computados, e submetidos à análise estatística utilizando o programa estatístico SPSS versão 10.0. Foram calculadas as médias dos lados teste e controle.

Para as variáveis contínuas PCS e NCI, foi utilizado um modelo linear generalizado (ANOVA de medidas repetidas com o teste de Newman-Keuls) para verificar se existiam diferenças entre os grupos e alterações entre os tempos experimentais.

A análise dos dados dos sítios teste e controle também utilizou o ANOVA de medidas repetidas com a complementação do teste de Newman-Keuls.

A comparação entre os sítios teste e controle, em relação ao questionário de efeitos adversos (EVA) foi feita pelo teste t de Student.

O desfecho primário foi considerado NCI, enquanto que as outras variáveis (PCS, IPV, SS e quantidade de bactérias, efeitos adversos) foram consideradas desfechos secundários.

Todos os testes foram realizados considerando um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Entre janeiro de 2013 a julho de 2013 foram examinados 89 voluntários que compareceram a clínica odontológica da disciplina de Periodontia da FOU SP para o exame de triagem, como exemplificado na figura 5.1. Destes, 38 indivíduos foram recrutados para o tratamento periodontal convencional (primeira etapa do estudo) de acordo com os critérios de elegibilidade. Após a coleta de dados, 3 sujeitos foram excluídos para a segunda etapa do estudo, que seria o início do tratamento periodontal, por não apresentarem os critérios de inclusão, 2 fizeram uso de antibioticoterapia e 1 desistiu de participar da pesquisa. Dessa maneira, foram incluídos 35 pacientes que receberam procedimentos de PDT e controle de acordo com o lado sorteado aleatoriamente. Estes pacientes foram pareados em sexo, idade e média de profundidade clínica de sondagem no início do estudo (baseline).

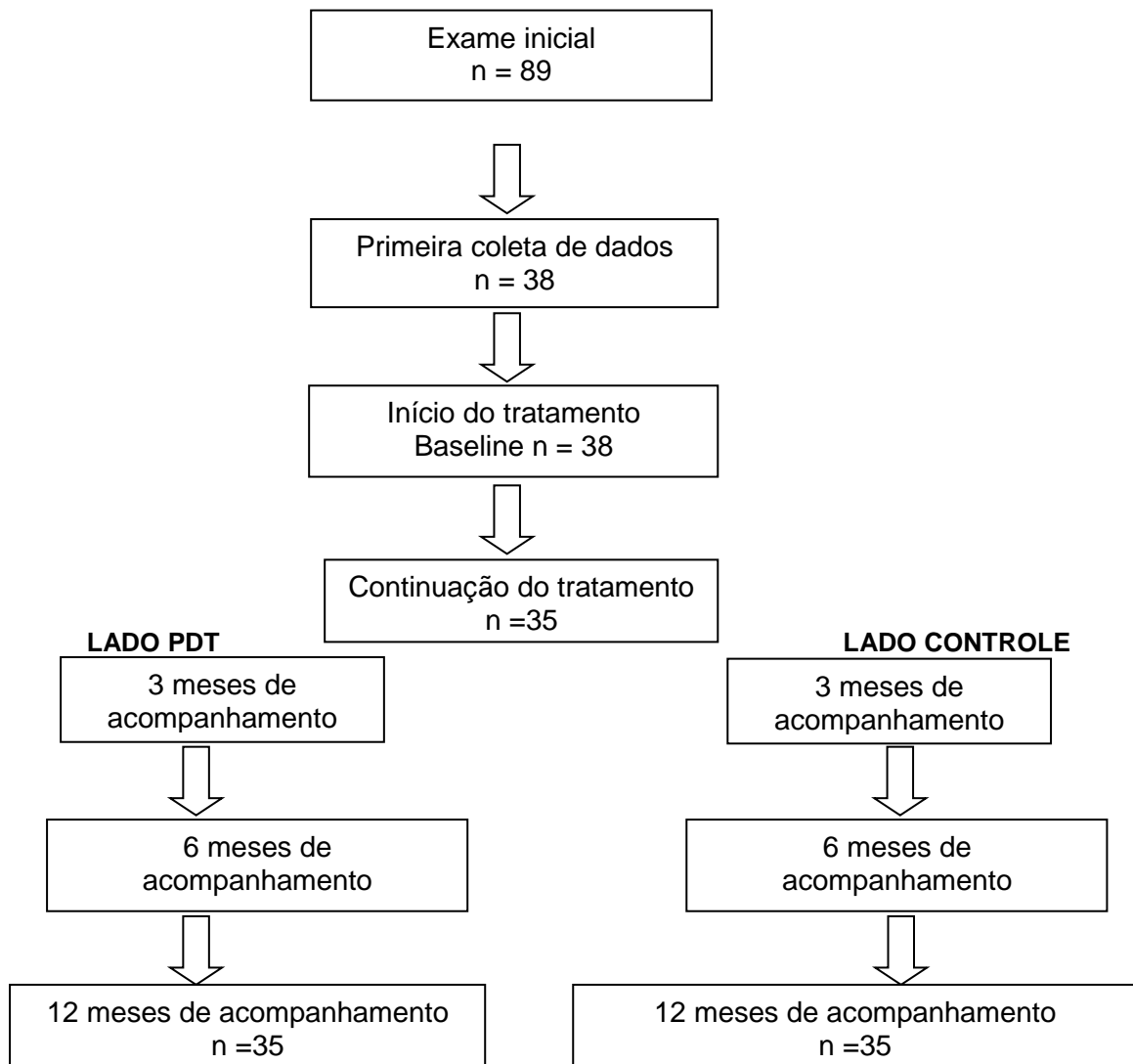


Figura 5.1- Diagrama representativo do recrutamento e acompanhamento dos indivíduos

5.1 Características dos indivíduos

Havia 20 mulheres e 15 homens no estudo, a porcentagem de indivíduos do sexo feminino foi de 57,1% e de indivíduos do sexo masculino foi de 42,9% (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 - Dados de sexo e idade dos indivíduos presentes no estudo

Variáveis	INDIVÍDUOS
N	35
Gênero feminino (%)	20 (57,1%)
Gênero masculino (%)	15 (42,9%)
Idade (anos)	48,69 ± 8,021
30-39 (N)	7
40-49 (N)	9
50-59 (N)	18
60-69 (N)	1

5.2 Parâmetros Clínicos (Boca Toda)

Tabela 5.2 - Média e desvio padrão dos parâmetros clínicos ao longo do tempo na boca toda

Variáveis	Baseline	3m	6m	12m
PCS (mm)	3,78 ± 1,06	2,75 ± 0,83*	2,58 ± 0,81*	2,37 ± 0,78 *
NCI (mm)	4,37 ± 1,18	3,47 ± 0,91*	3,36 ± 0,87*	2,96 ± 0,80 *
IPV (%)	0,50 ± 0,14	0,17 ± 0,09 *	0,14 ± 0,08*	0,07 ± 0,04 *
SS	0,37 ± 0,92	0,14 ± 0,08*	0,11 ± 0,07*	0,06 ± 0,04*
p		< 0,01	< 0,01	< 0,01

*diferença ao longo do tempo em relação ao baseline significativa a 5%

Na tabela 5.2, em relação ao baseline, observa-se melhora em todos os parâmetros clínicos avaliados nos tempos de 3 meses, 6 meses e 9 meses em todos os sítios. Houve diferença estatística significativa durante os tempos.

5.3 Parâmetros Clínicos (Comparação Lado Teste e Lado Controle)

Tabela 5.3 - Média e desvio padrão dos parâmetros clínicos do lado teste e controle

SÍTIOS EXPERIMENTAIS	BASELINE	3m	6m	12m
PCS				
LADO TESTE	5,94 ± 0,90	2,71 ± 1,04 ^A	2,00 ± 0,87 ^A	1,77 ± 0,54 ^A
LADO CONTROLE	5,85 ± 0,87	2,57 ± 1,03 ^A	1,85 ± 0,69 ^A	1,74 ± 0,65 ^A
P	0,67	0,48	0,48	0,88
NCI				
LADO TESTE	6,20 ± 1,13 [*]	3,48 ± 1,03 ^A	3,25 ± 0,70 ^A	2,60 ± 0,69 ^A
LADO CONTROLE	5,65 ± 1,13	3,20 ± 0,90 ^A	3,48 ± 1,03 ^A	2,91 ± 0,74 ^A
P	0,01	0,43	0,58	0,17
IPV				
LADO TESTE	0,77 ± 0,42	0,02 ± 0,16 ^A	0,02 ± 0,16 ^A	0,05 ± 0,23
LADO CONTROLE	0,80 ± 0,40	0,02 ± 0,16 ^A	0,11 ± 0,32 ^A	0,08 ± 0,28 ^A
P	0,68	1,00	0,60	0,68
SS				
LADO TESTE	0,65 ± 0,48	0,02 ± 0,16 ^A	0,02 ± 0,16 ^A	0,14 ± 0,35 ^A
LADO CONTROLE	0,65 ± 0,48	0,14 ± 0,35 ^A	0,08 ± 0,28	0,08 ± 0,28
P	1,00	0,72	0,76	0,76

* diferença inter-grupos significativa a 5% (Newman Keuls test)

^A diferença intra-grupo significativa em relação ao baseline (Newman Keuls test)

A tabela 5.3 mostra que ocorreu a redução da Profundidade Clínica de Sondagem tanto no lado teste quanto no controle, houve diferença significativa intra-grupo desse parâmetro em relação ao baseline, porém entre o lado que recebeu a aplicação da PDT e o que recebeu o procedimento controle não ocorreu diferença significativa.

Em relação ao NCI, os dados mostraram que ocorreu ganho de inserção ao longo do tempo, a diferença intra-grupo foi significativa para os dois lados. Já nas diferenças inter-grupos, em relação ao baseline (primeira medida realizada pelo examinador) houve uma diferença significativa entre as médias dos lados teste e controle, os demais tempos não apresentaram dados estatisticamente significativos.

O índice de Placa Visível apresentou redução das médias ao longo dos tempos avaliados, porém não houve melhora significativa em relação aos dois lados avaliados.

Ocorreu diferença dos lados teste e controle na diferença intra-grupo em relação ao baseline exceto no tempo de 12 meses, onde não ocorreu melhora significativa.

No Sangramento a sondagem, podemos observar redução das médias obtidas através dos tempos, porém também não foram apresentadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois lados avaliados. Houve diferença intra-grupo, exceto para o lado controle nos tempos de 6 e 12 meses.

5.4 Dados do Questionário EVA

Tabela 5.4 - Média e desvio-padrão da escala EVA nos grupos teste e controle (medidas em cm)

	BASELINE	3m	6m	12m
LADO TESTE	1,55 ± 1,86	0,53 ± 0,16	1,19 ± 1,26	1,02 ± 1,46
LADO CONTROLE	1,02 ± 1,46	0,12 ± 0,36	0,32 ± 0,57	0,52 ± 1,41
P (teste t)	0,34	0,23	0,45	0,39

Não é possível observar diferença significativa entre os lados ao longo do tempo com relação ao questionário EVA.

6 DISCUSSÃO

O objetivo principal deste estudo foi o de avaliar a eficácia da Terapia Fotodinâmica em indivíduos fumantes e avaliar o procedimento experimental e o controle dentro do mesmo paciente, para minimizar diferenças fisiológicas entre os indivíduos. Após as avaliações realizadas nos tempos de 3, 6 e 12 meses, a hipótese de que a PDT pudesse atuar com maior eficácia como coadjuvante do tratamento periodontal básico foi rejeitada.

As áreas com bolsas profundas constituem um importante desafio para a obtenção de bons resultados após a raspagem, principalmente devido a facilidade dessas regiões em serem recolonizadas logo após o tratamento periodontal, por isso há a necessidade de complementação terapêutica. Além das bolsas profundas, no universo de pacientes deste estudo, encontramos indivíduos fumantes, que apresentam uma maior recidiva de doença periodontal e resposta menos favorável tanto ao tratamento periodontal convencional quanto a outros tratamentos complementares.

Após a raspagem e subsequente aplicação da PDT no sítio experimental, a hipótese do estudo começou a ser testada. Ao longo dos 12 meses de acompanhamento, observou-se melhora nos parâmetros clínicos, porém sem diferenças entre os lados teste e controle, observou-se também diferença significativa entre os tempos de um mesmo lado em relação ao baseline.

Esses resultados são semelhantes aos achados no estudo mais recente de PDT em indivíduos fumantes (Queiroz et al., 2013), onde houve melhora dos parâmetros, porém sem diferenças entre os grupos. Queiroz e colaboradores avaliaram apenas um momento desses pacientes, já neste presente estudo foram avaliados parâmetros clínicos de 3, 6 e 12 meses, porém mesmo com mais tempo de follow-up, não foram obtidas diferenças estatísticas significativas.

O protocolo proposto para esse estudo seguiu as instruções do manual do fabricante para aplicação da Terapia Fotodinâmica em bolsas periodontais, foram utilizados esses parâmetros para verificar se o aparelho de laser utilizado quando usado seguindo as instruções propostas por seu fabricante poderia atuar e trazer benefícios complementares ao tratamento periodontal convencional, porém não foi

observado benefício na utilização desse aparelho dentro do protocolo proposto nos pacientes deste estudo.

Os achados clínicos deste estudo vão de encontro a alguns trabalhos que apresentaram diferenças significativas entre os grupos como no de Andersen et al., 2007, onde 33 sujeitos foram avaliados por 4 meses e encontraram diferenças importantes entre os grupos. Deve-se levar em consideração que o aparelho de laser utilizado e o protocolo foram diferentes do utilizado nesse presente estudo. Os autores utilizaram um aparelho com maior potência, maior comprimento de onda e maior tempo de exposição nos sítios experimentais. No trabalho de Lulic et al., 2009 também encontraram diferença significativa entre os grupos num período de 6 meses de acompanhamento, neste trabalho foram empregadas sucessivas aplicações de PDT e depois acompanhadas ao longo do tempo. Em 2011, AL-Zahrani e Austah encontraram diferenças importantes entre os 20 indivíduos que participaram do estudo num intervalo de 3 meses e concluíram que a PDT poderia sim ser empregada como um método complementar ao tratamento periodontal não-cirúrgico.

No entanto, outros trabalhos apresentaram as mesmas conclusões obtidas através dos resultados deste presente trabalho, como o de Christodoulides et al., 2008, que acompanharam por 6 meses, 24 pacientes que receberam a Terapia Fotodinâmica e como no presente estudo, obtiveram melhora nos parâmetros clínicos, mas sem diferenças estatísticas relevantes quanto aos grupos no intervalo de tempo avaliado. Polansky et al., 2009 avaliaram um número maior de pacientes (58) durante 3 meses e embora tenham obtidos melhoras visíveis no IPV e no SS desses indivíduos, as diferenças não foram importantes estatisticamente.

As condições específicas de cada protocolo utilizado nos estudos como tempo de atuação, concentração do agente fotossensibilizante, pH do local e presença de exsudato subgengival, podem influenciar na atuação da PDT (Wilson, 2007), por isso não são encontrados nos trabalhos clínicos os mesmos resultados dos estudos *in vitro* (Dobson; Wilson, 1992; Sarkar; Wilson, 1993; Kömerick et al., 2003; Souza, 2007; Qin et al., 2008). Além disso, é difícil comparar e buscar um único protocolo que se mostre eficaz, pois os trabalhos são heterogêneos em relação a protocolos, aparelhos de laser utilizados, fotossensibilizadores e tratamentos periodontais empregados nos indivíduos.

É importante também ressaltar que nenhum dos estudos mencionados acima foi realizado em indivíduos fumantes, apenas o de Queiroz et al., 2013, o que justifica a necessidade de maior investigação clínica dos efeitos da PDT nesse universo específico de pacientes.

Em relação ao procedimento utilizado no lado controle (sham), foi empregada a simulação da PDT com o posicionamento da ponta ativa do aparelho de laser sem a ativação. Não foi empregada a irrigação com agente fotossensibilizadores, pois estudos como o de Almeida et al.(2007) e de Sharman et al.(1999) demonstraram a ineficiência dessa irrigação em relação a sensibilização de periodontopatógenos.

Quanto aos efeitos adversos apresentados na tabela 5.4, nenhum paciente necessitou do uso de anestesia local para irrigação do fotossensibilizador ou irradiação com o laser, o que leva a concluir que o grau de desconforto dos pacientes em relação ao procedimento experimental e controle em ambos os grupos foi muito baixo, isso assegura o uso da PDT como um método livre de efeitos adversos, como também foi concluído nos estudos de (Cappuyns et al., 2012; Müller Campanile et al., 2013).

Assim sendo, este estudo pode demonstrar que a PDT utilizada nos indivíduos fumantes, dentro do protocolo específico utilizado, que seguiu as instruções do manual do fabricante, falhou quanto a eficácia de promover benefício adicional no controle e manutenção desses pacientes. Esses dados obtidos não descartam a possibilidade da PDT ser um método promissor para a complementação do tratamento periodontal na melhora dos parâmetros clínicos, no entanto, são necessários mais estudos a fim de se obter um protocolo que seja mais eficaz para a aplicação da PDT em ambiente subgingival, principalmente em indivíduos que não respondem bem ao tratamento periodontal convencional, como no caso dos fumantes, sujeitos deste estudo. Há a necessidade também de ensaios clínicos que acompanhem um maior número de pacientes por um maior período de tempo.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo foram observadas melhoras em todos os parâmetros clínicos avaliados nos indivíduos participantes, porém devido a ausência de diferenças significativas em relação ao procedimento de Terapia Fotodinâmica (PDT) em relação ao procedimento controle, não é possível afirmar que seu uso trouxe benefícios adicionais para a complementação do tratamento periodontal em fumantes.

REFERÊNCIAS¹

Adriens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol.* 1988; 59:222-30.

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4): 229-35.

Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Laser Surg Med.* 2001;29(2): 179-84.

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 Mar;78(3):566-75.

Al-Zahrani MS, Austah ON. Photodynamic therapy as an adjunctive to scaling and root planing in treatment of chronic periodontitis in smokers. *Saudi Med J.* 2011 32(11): 1183-8.

American Academy of Periodontology. Position Paper. Tobacco use and the periodontal patient. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. *Periodontol.* 1999; 70: 1419-27.

Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planning. *J Clin Dent.* 2007;18(2): 34-8.

Andrade AKP; De Micheli G; Pannuti CM; Cai S; Zezell DM; Feist IS. Redução bacteriana em lesões de furca grau II após raspagem associada ou não à aplicação do laser de Nd:YAG. *RPG. Revista de Pós-Graduação USP.* 2005; 12: 308-15.

Andrade AK, Feist IS, Pannuti CM, Cai S, Zezell DM, De Micheli G. Nd:YAG laser clinical assisted in class II furcation treatment. *Lasers Med Sci.* 2008; 23(4): 341-7. Epub 2007 Sep 26.

¹ De acordo com estilo Vancouver

Atieh MA. Photodynamic therapy as an adjunctive treatment for chronic periodontitis: a meta-analysis. *Lasers Med Sci.* 2010; 25(4): 605-13.

Azarpazhooh A, Shah PS, Tenenbaum HC, Goldberg MB. The effect of photodynamic therapy for periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2010; 81(1): 4-14.

Balata ML, Andrade LP, Santos DB, Cavalcanti AN, Tunes Uda R, Ribeiro Édel P, Bittencourt S. Photodynamic therapy associated with full-mouth ultrasonic debridement in the treatment of severe chronic periodontitis: a randomized-controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21(2): 208-14.

Bergström J, Eliasson S, Dock J. Exposure to tobacco smoking and periodontal health. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: 61-8.

Bogren A, Teles RP, Torresyap G, Haffajee AD, Socransky SS, Wennström JL. Locally delivered doxycycline during supportive periodontal therapy: a 3-year study. *J Periodontol.* 2008; 79: 827-835.

Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 877–84.

Campos GN, Pimentel SP, Ribeiro FV, Casarin RC, Cirano FR, Saraceni CH, Casati MZ. The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci.* 2013; 28(1): 317-24.

Cappuyns I, Cionca N, Wick P, Giannopoulou , Mombelli A. Treatment of residual pockets with photodynamic therapy, diode laser, or deep scaling. A randomized, split-mouth controlled clinical trial. *Laser Med Sci.* 2012 Sep; 27(5):979-86. doi: 10.1007/s10103-011-1027-6.

Cargnelutti, T. Estudo comparativo da influência da terapia fotodinâmica antimicrobiana e da remoção mecânica de biofilme no processo periodontal inflamatório induzido em hamsters. [dissertação]. São Paulo; Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2007.

Casseb APB, De Micheli G, Lotufo RFM, Romito GA, Conde MC, Carvalho CV, De Micheli PR. Aplicação do laser de CO₂ em gengivoplastia e gengivectomia. *Revista Peridontia. Sociedade Brasileira de Periodontologia.* 2004; 14(1): 35-9.

Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci.* 2003;18(1):51-5.
 Chen X, Wolff L, Aeppli D, Guo Z, Luan W, Baelum V, Fejeskov O. Cigarette smoking, salivary/gingival crevicular fluid cotinine and periodontal status. A 10-year longitudinal study. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 331-9.

Christodoulides N, Nikolidakis D, Chondros P, Becker J, Schwarz F, Rössler, Sculean A. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2008;79:1638-44.

Claffey N, Nylund K, Kiger , Garrett S, Egelberg J. Diagnostic predictability of scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth for probing attachment loss. 3 ½ years of observation following initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1990;17:108-14.

Claffey N, Egelberg J. Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1995;22(9):690-6.

Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planning. *J Clin Periodontol* 2002;29:6-16.

Cortelli JR, Querido SMR, Aquino DR, Ricardo LH, Pallos D. Longitudinal clinical evaluation of adjunct minocycline in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006;77:161-66.

Damante CA; De Micheli G; Miyagi SPH; Feist IS; Marques MM. Effect of laser phototherapy on the release of fibroblast growth factors by human gingival fibroblasts. *Lasers in Medical Science* 2008; 4: 1., p. 1.

Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. *Arch Oral Biol* 1992 Nov;37(11):883-7.

Drisko CH. Non surgical periodontal therapy. *Periodontol* 2000 2001;25:77-88.

Feist IS, De Micheli G, Carneiro SRS, Eduardo CP, Miyagi SPH, Marques MM. Adhesion and growth of cultured human gingival fibroblasts on periodontally involved root surfaces treated by Er:YAG laser. *Journal of Periodontology, Chicago.*2003; 9: 1368-1375.

- Garcia VG, de Lima MA, Okamoto T, Milanezi LA, Júnior EC, Fernandes LA, de Almeida JM, Theodoro LH. Effect of photodynamic therapy on the healing of cutaneous third-degree-burn: histological study in rats. *Lasers Med Sci.* 2010; 25(2): 221-8.
- Ge L, Shu R, Li Y, Li C, Luo L, Song Z, Xie Y, Liu D. Adjunctive effect of photodynamic therapy to scaling and root planning in the treatment of chronic periodontitis. *Photomed Laser Surg.* 2011;29:33-7.
- Glavind L, Løe H. Errors in the clinical assessment of periodontal destruction. *J Periodontal Res.* 1967; 2(3): 180-4.
- Grossi SG, Skrepcinsky FP, De Caro T, Zambom JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol* 1996; 67:1094-1102.
- Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment levels profiles. *J Clin Periodontol* 2001; 28:283-95.
- Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M. Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol.* 2008 Sep;35(8 Suppl):45-66.
- Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP, Dyer JK. Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *J Periodontol.* 1996;67(2):93-102.
- Kömerick N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence of Gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol.* 2000;72(5):676-80.
- Kömerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47(3): 932-40
- Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in Dentistry. *J Dent Res.* 2007; 86(8):694-707.
- Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965; 36(3):177-87.

Lulic M, Leiggener Gorog I, Salvi GE, Ramseier CA, Mattheos N, Lang NP. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(8): 661-6.

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 Periodontal Res.* 2003; 38(4): 428-35.

Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, Lang NP. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(8): 685-95.

Meisel, P, Kocher, T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: State of the art. *J Photochem Photobiol Biology.* 2005; 79: 159-70.

Müller Campanile VS, Giannopoulou C, Campanile G, Cancela JA, Mombelli A. Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. *Lasers Med Sci.* 2013 May 10. Doi:10.1007/s10103-013-1337-y.

Nassrawin NA. Effect of smoking on the response to nonsurgical periodontal therapy. *Eastern Mediterr Health J.* 2010; 16(2): 162-5.

Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol.* 2007; 78(6): 965-73.

Paolantonio M, D'Angelo M, Grassi RF, Perinetti G, Piccolomini R, Pizzo G, Annunziata M, D'Archivio, D'Ercole S, Nardi G, Guida L. Clinical and microbiologic effects of subgingival controlled-release delivery of chlorhexidine chip in the treatment of periodontitis: a multicenter study. *J Periodontol.* 2008; 79: 271-82.

Pedrazzoli V, Kilian M, Karring T, Kirkegaard E. Effect of surgical and non-surgical periodontal treatment on periodontal status and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol.* 1991; 18(8): 598-604.

Petersilka GJ, Ehmke B, Flemmig TF (2002). Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol.* 2002; 28: 56-71.

Pfitzer A, Sigusch BW, Albrecht V, Glockmann E. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. *J Periodontol.* 2004 Oct;75(10):1343-9.

Prates RA, Yamada AM, Suzuki LC, França CM, Cai S, Mayer MP, Ribeiro AC, Ribeiro MS. Histomorphometric and microbiological assessment of photodynamic therapy as an adjuvant treatment for periodontitis: a short-term evaluation of inflammatory periodontal conditions and bacterial reduction in a rat model. *Photomed Laser Surg.* 2011; 29(12): 835-44.

Polansky R, Haas M, Heschl A, Wimmer G. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(7): 575-80.

Queiroz AC, Suaid FA, Andrade PF, Oliveira FS, Novaes AB Jr, Taba M Jr, Palioto DB, Grisi MF, Souza SL. Adjunctive effect of antimicrobial photodynamic therapy to nonsurgical periodontal treatment in smokers: a randomized clinical trial. *Lasers Med Sci.* 2013; 5.

Qin YL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2008; 43(2): 162-7.

Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D. The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 2001; 6: 499-507.

Quirynen M, Vogels R, Pauwels M, Haffajee AD, Socransky SS, Uzel NG, Steenberghe D. Initial subgingival colonization of 'pristine' pockets. *J Dent Res.* 2005; 84(4): 340-4.

Rateitschack-Pluss EM, Schwartz JP, Guggenheim R, Duggelin M, Rateitschak KH. Non-surgical periodontal treatment: Where are the limits? An SEM study. *J Clin Periodontol.* 1992; 19: 240-4.

Ratka-Krüger P, Schacher B, Bürklin T, Böddinghaus B, Holle R, Renggli HH, Eickholz P, Kim TS. Non-surgical periodontal therapy with adjunctive topical doxycycline: a double-masked, randomized, controlled multicenter study. II. Microbiological results. *J Periodontol.* 2005; 76: 66-74.

Renvert S, Persson GR. A systematic review on the use of residual probing depth, bleeding on probing and furcation status following initial periodontal therapy to predict further attachment and tooth loss. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(3):82-9: 90-1

Sarkar S, Wilson M. Lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 1993; 28(3):204-10.

Sbordone L, Ramaglia L, Gulletta E, Iacomo V. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *J Periodontol.* 1990;60:579-84.

Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ.* 2010;340:c332.

Sperandio FF, Simões A, Aranha AC, Corrêa L, Orsini Machado de Sousa SC. Photodynamic therapy mediated by methylene blue dye in wound healing. *Photomed Laser Surg.* 2010; 28(5): 581-7.

Theodoro LH, Silva SP, Pires JR, Soares GHG, Pontes AEF, Zuza EP, Spolidório DMP, Toledo EBC, Garcia VG. Clinical and microbiological effects of photodynamic therapy associated with nonsurgical periodontal treatment. A 6-month follow-up. *Laser Med Sci.* 2012; 27(4): 687-93.

Woodruff LD, Bounkeo JM, Brannon WM, Dawes KS, Barham CD, Waddell DL, Enwemeka CS. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg.* 2004; 22: 241-47.

Scabbia A, Cho K-S, Sigurdsson TJ, Kim C-K, Trombelli L. Cigarette smoking negatively affects healing response following flap debridement surgery. *J Periodontol.* 2001; 72:43-9.

Serino G, Rosling B, Ramberg P, Socransky SS, Lindhe J. Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(10): 910-6.

Sgolastra F, Petrucci A, Severino M, Graziani F, Gatto R, Monaco A. Adjunctive photodynamic therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2013; 40(5): 514-26.

Sharman WM, Allen CM, van Lier JE. Photodynamic therapies: Basic principles and clinical applications. *Drug Discov Today.* 1999; 4: 507-17.

Sigush B, Pfitzner A, Albrecht V, Glockman E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *J Periodontol.* 2005 July;76(7):1100-5.

Sigush BW, Engelbrecht M, Vöpel A, Holletschke A, Pfister W, Schütze J. Full-Mouth Antimicrobial Photodynamic Therapy in *Fusobacterium nucleatum*-Infected Periodontitis Patients. *J Periodontol.* 2010; 81: 975-81.

Socransky, S.S.; Haffajee, A.D. Dental biofilms: difficult therapeutics targets. *Periodontology 2000.* 2002; 28:12-55.

Soukos NS, Mulholland SE, Socransky SS, Doukas AG. Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photomechanical waves in an oral biofilm model. *Lasers Surg Med.* 2003; 33(3): 161-8.

Souza GR. "Análise comparativa da emissão de luz por led e lasers emitindo no vermelho do espectro eletromagnético na redução de bactérias periodontopatogênicas. Estudo *in vitro*"[dissertação]- Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: Findings from NHANES III. *J Periodontol,* 2000; 71:743-51.

Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:210-3.

Tomasi C, Koutouzis T, Wennström JL. Locally delivered doxycycline as an adjunct to mechanical debridement at retreatment of periodontal pockets. *J Periodontol.* 2008; 79: 431-39.

Van Winkelhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic in periodontics. *Periodontology 2000.* 1996; 10: 45-78.

Van Winkelhoff AJ, Bosh-Tijhof CJ, Winkel EG, van der Reijden WA. Smoking affects subgingival microflora in periodontitis. *J Periodontol,* 2001; 72:666-71.

Westfeld E, Rylander H, Dahlén G, Lindhe J. The effect of supragingival plaque control on the progression of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1998;25:536-41.

Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiol Immunol*. 1993; 8(3): 182-7.

Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, Lockhart PB, Baddour LM, Levison M, Bolger A, Cabell CH, Takahashi M, Baltimore RS, Newburger JW, Strom BL, Tani LY, Gerber M, Bonow RO, Pallasch T, Shulman ST, Rowley AH, Burns JC, Ferrieri P, Gardner T, Goff D, Durack DT; American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee; American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young; American Heart Association Council on Clinical Cardiology; American Heart Association Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation*. 2007 Oct 9;116(15):1736-54. Epub 2007 Apr 19

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa- FOU SP




UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 201/10
CAAE 0027.0.017.000-10

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Avaliação da terapia fotodinâmica como complemento ao tratamento não cirúrgico da periodontite crônica em bolsas residuais de fumantes**", de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Verônica Franco de Carvalho, Vanessa Tubero Euzébio Alves, Giorgio De Micheli, Marco Antonio Paupério Georgetti sob orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) Marina Clemente Conde.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 19 de abril de 2011.


Profa. Dra. Marcia Furrolla Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre E Esclarecido de Participação em Pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DE PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

“Terapia fotodinâmica como tratamento complementar ao tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica em fumantes: um ensaio clínico aleatório controlado.”

As informações abaixo são para esclarecer e pedir a sua participação voluntária nesse estudo que tem por finalidade avaliar possíveis benefícios de um tratamento complementar para doença periodontal.

O laser que será utilizado nessa pesquisa é o Diodo, associado a um corante para sensibilizar as bactérias que são encontradas nas bolsas periodontais, no que se denomina “Terapia Fotodinâmica”. Esta terapia será utilizada como auxiliar no tratamento convencional da doença periodontal, pois em estudos prévios ela demonstrou ter capacidade de reduzir o número de bactérias que estão relacionadas à doença.

Os pacientes que participarão deste estudo responderão a um questionário de saúde, e passarão pelo seguinte protocolo:

- Termo de consentimento livre e esclarecido
- Exame clínico – serão coletados alguns dados sobre o estado clínico periodontal dos dentes. Dependendo do grau de inflamação da gengiva poderá levar a algum desconforto na região, o qual desaparecerá após a remoção da sonda.
- Exame radiográfico – serão feitas 14 radiografias periapicais. Em poucos casos alguns pacientes relatam náuseas durante a permanência do filme na cavidade bucal, dependendo da área em que o filme radiográfico está em contato.
- Diagnóstico – feito sem a presença do paciente, por meio dos dados obtidos nos exames realizados.
- Procedimentos básicos periodontais – tratamento que inclui raspagem, alisamento coronário-radicular, o qual será feito sob anestesia local, por meio de instrumentos ultra-sônicos e manuais, e orientação de higiene bucal.
- Aplicação do corante e do laser – não necessita anestesia, pois os pacientes não relatam dor durante a aplicação, a qual dura em torno de 2 minutos.
- Controles periódicos no decorrer do estudo – serão realizados procedimentos de remoção de placa bacteriana por meio de polimento com taça de borracha e pasta abrasiva e ultra-som, nos intervalos de tempo pré- estabelecidos.

Todos os procedimentos empregados fazem parte de um tratamento periodontal rotineiro, com exceção da aplicação o laser e do corante, que só pertencem ao estudo.

Qualquer intercorrência que venha a acontecer, como dor, sensibilidade ou outros desconfortos gerados pelo tratamento, o paciente terá todo o amparo necessário podendo entrar em contato com um dos membros da equipe de pesquisa, pelos telefones fornecidos ao início do estudo.

A identificação do paciente será preservada de forma que seu nome não constará nas publicações subseqüentes à pesquisa, nem será citado em cursos, palestras ou aulas expositivas. Os dados obtidos serão utilizados somente para este estudo.

O paciente não efetuará nenhum pagamento por sua participação nesta pesquisa, porém receberá o benefício de um tratamento periodontal completo.

Fica esclarecido que o paciente terá o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, de forma a imperar seu livre-arbítrio. Da mesma forma, o paciente que não se mostrar cooperador durante o estudo será excluído da pesquisa.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (Av. Lineu Prestes 2227, 05508-000 - São Paulo).

Após ler estas informações e de ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pelo pesquisador concordo em participar de forma voluntária neste estudo.

Nome completo: _____

Data de nascimento: _____ RG: _____ Data da expedição: _____

Endereço: _____

_____ Cidade/UF: _____

CEP: _____ Telefones: _____

Declaro estar de pleno acordo com os termos acima, e opto pela participação voluntária na pesquisa supra-citada.

São Paulo, ____ de _____ de 20 ____ .

Assinatura do Paciente

ANEXO C - Questionário de Efeitos Adversos

QUESTIONÁRIO DE EFEITOS ADVERSOS

Nome: _____ data: _____

 baseline 7 dias 3 meses 6 meses 9 meses 12 meses**SINTOMAS:****LADO TESTE**

DOR

0 _____ 10

Outros sintomas:

Intra-oral: inchaço sensibilidade dentária manchasExtra-oral: dor de cabeça desconforto ao mastigar outros _____**SINAIS:**Intra-oral: edema ulceração eritema manchasExtra-oral: _____ outros _____**SINTOMAS:****LADO CONTROLE**

DOR

0 _____ 10

Outros sintomas:

Intra-oral: inchaço sensibilidade dentária manchasExtra-oral: dor de cabeça desconforto ao mastigar outros _____**SINAIS:**Intra-oral: edema ulceração eritema manchasExtra-oral: _____ outros _____