UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

ISABELA RODRIGUES GONSALES

Biomarcadores inflamatórios em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 tratados por terapia fotodinâmica antimicrobiana adjuvante ao tratamento periodontal

BAURU
2021

ISABELA RODRIGUES GONSALES

Biomarcadores inflamatórios em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 tratados por terapia fotodinâmica antimicrobiana adjuvante ao tratamento periodontal

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Periodontia.

Orientador: Prof. Dra. Carla Andreotti Damante.

BAURU

2021

Rodrigues Gonsales, Isabela
Biomarcadores inflamatórios em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 tratados por terapia fotodinâmica antimicrobiana adjuvante ao tratamento periodontal / Isabela Rodrigues Gonsales. -- Bauru, 2021.
127 p. : il. ; 31 cm.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, ano de defesa.

Orientador: Profa. Dra. Carla Andreotti Damante

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
CAAE: 65048317.5.0000.5417
Parecer nº: 1.959.932
Data: 18/03/2017

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Assistência Técnica Acadêmica

Serviço de Pós-Graduação

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dissertação apresentada e defendida por
ISABELA RODRIGUES GONSALES
e aprovada pela Comissão Julgadora
em 10 de dezembro de 2021.

Prof.ª Dr.ª **MARIANA FAMPA FOGACCI**
UFPE

Prof. Dr. **RENATO ARAUJO PRATES**
UNINOVE

Prof.ª Dr.ª **MARIANA SCHUTZER RAGGHIANTI ZANGRANDO**
FOB-USP

Prof.ª Dr.ª **CARLA ANDREOTTI DAMANTE**
Presidente da Banca
FOB - USP

Profª. Drª. **Izabel Regina Fischer Rubira de Bullen**
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus, que me deu saúde, direcionamento, coragem e condições para conquistar mais um objetivo.

À minha família, que esteve sempre presente, dando-me suporte e motivação para realizar meus sonhos, sendo fonte de estímulo ao meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Deus,** por ser meu alicerce, me conceder força, amparo e proteção, sempre me abençoando e guiando. Obrigada por colocar pessoas tão especiais em minha vida. "Confia ao Senhor a tua sorte, espera nele, e ele agirá" - Salmos, 36.

Aos meus pais, **Dorival** e **Ivone**, por tudo o que já fizeram e fazem por mim e a meus irmãos. Sou grata por todo amor, força, incentivo e, principalmente, por ter vocês em minha vida. São minhas maiores inspirações e exemplos de bondade, dignidade e luta. Todas as minhas conquistas dedico a vocês.

Aos meus irmãos, **Juliana** e **Luis Fernando**, muito obrigada pela amizade e companhia em todos os momentos. Como é bom crescer e amadurecer ao lado de vocês.

À minha família, tios e primos, em especial à minha tia **Marcia,** minha prima **Marcielle** e meu primo **Leonardo,** por terem estado sempre presentes, principalmente nos momentos de dificuldade. “A família é um salva-vidas no mar agitado da vida”.

Às amigas, que mesmo fora do ‘’universo acadêmico’’ e dessa profissão, sempre se dispuseram a me ouvir e ajudar quando precisei: **Amanda Gaioto, Bárbara Sartore** e **Luana Sena**. Sou extremamente grata por suas amizades e por tudo o que já vivenciamos.

Aos docentes da Periodontia da FOB-USP, responsáveis por minha formação profissional:

Em especial à minha orientadora, **Profa. Dra. Carla Andreotti Damante**, agradeço imensamente todo o acolhimento, a disponibilidade, dedicação e amizade que teve a mim durante meu mestrado. Obrigada também pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional, pelos ensinamentos, pela compreensão e pela confiança depositada em mim, me permitindo executar este trabalho.

À **Profa. Dra. Mariana S. R. Zangrando**, que foi minha primeira orientadora de Iniciação Científica e também meu primeiro contato com a Periodontia e com a pesquisa. Sou grata pela experiência que despertou o meu interesse pela carreira acadêmica. Obrigada também pela dedicação e atenção durante as clínicas da CPP (Clínica de Plástica Periodontal), que foi uma experiência muito rica.

À **Profa. Dra. Adriana C. P. Sant'Ana**, que também foi minha orientadora de Iniciação Científica, muito obrigada pela forma leve e atenciosa com que lida com as situações. Agradeço por todo conhecimento transmitido, por sempre nos incentivar e apoiar, acreditando em nosso potencial.

Ao **Prof. Dr. Sebastião L. A. Greghi**, obrigada pela dedicação e profissionalismo na execução das atividades. Agradeço por sua disposição em compartilhar sua experiência e conhecimentos de forma acolhedora.

À **Profa. Dra. Maria Lúcia (Malu)**, muito obrigada por todo suporte, ensinamentos e incentivos. Obrigada por sempre acreditar e esperar mais de nós, nos permitindo evoluir.

À **Profa. Dra. Samira Salmeron**, muito obrigada pelos ensinamentos, incentivos, e também por compartilhar conosco sua experiência de forma gentil e acolhedora.

Às funcionárias do departamento de Periodontia: **Edilaine Lúcio Rodrigues Torrecilha, Ivânia Komatsu da Costa Arruda** e **Marcela Maria Pereira**, muito obrigada por toda dedicação, comprometimento e gentileza ao nos atender.

Aos **funcionários da Esterilização**, por sempre atuarem de forma muito responsável, atenciosa e descontraída.

Aos funcionários do CIP (Centro Integrado de Pesquisas), **Marcelo Milanda Ribeiro Lopes, Rafaela Alves da Silva Alavarce, Márcia Sirlene Zardin Graeff,** por todo suporte, disponibilidade e atenção.

Ao funcionário de laboratório **Thiago José Dionísio**, por toda ajuda, paciência e orientação nos experimentos no laboratório da Farmacologia.

Ao **Prof. Dr. Heitor Marques de Honório** pelos ensinamentos e contribuição na análise estatística da pesquisa.

A todos os demais **funcionários da Faculdade de Odontologia de Bauru**, que de maneira direta, ou indireta, contribuíram para o funcionamento e execução das atividades da pós-graduação.

À **Paula Cunha**, por ter me apresentado a rotina da pós-graduação, me ensinado a conduzir a pesquisa e, por ter compartilhado sua experiência de forma amigável. Muito obrigada, torço pelo seu sucesso.

Aos meus amigos da **Turma 54** que me acompanharam durante a graduação e também na pós-graduação, compartilhando os momentos de alegrias e dificuldades: **Aline Oliveira, Aline Oyadomari, Aliny Bisaia, Ana Carolina Rodrigues, Beatriz Garrido, Bianca Katsumata, Constantino Fernandes Neto, Daniel Janson, Eduarda Camargo, Giovana Tolentino, Giovanna Fávero, Guilherme Simpione, Isadora Messias, Patrícia Camargo, Paulo Jara, Pedro Magão, Veridiana Rizatto.** Muito obrigada a todos pela amizade e companhia nessa jornada. Desejo sucesso a todos.

Às minhas amigas que me acompanharam em todos os momentos, os de alegria e descontração e também nas dificuldades, sempre ajudando e incentivando, sou extremamente grata por ter tido a companhia de vocês: **Aline Oliveira, Aline Oyadomari, Danielle, Eduarda, Giovanna, Isadora Medeiros, Isadora Messias, Jennyfer e Paola.**

Aos amigos de graduação que mesmo distantes sempre estiveram presentes, acompanhando toda a minha trajetória, me incentivando, ajudando e animando. Vocês foram e são muito importantes para mim, sou extremamente grata por suas amizades: **Adassa Gomes, Aymée Shiota, Larissa Kandalaft, Mariane Bregadioli, Matheus Bariquelo, Veridiana Rizatto.**

Em especial à amiga que a FOB me deu, **Giovanna Fávero**, sendo minha companhia da graduação ao mestrado. Sou grata por sua amizade e por compartilharmos essa trajetória há 7 anos. A caminhada foi intensa, com alegrias, momentos difíceis e muito aprendizado. Admiro sua leveza e também a força com que lida com as situações. Muito obrigada por tudo.

Aos amigos que prontamente me recepcionaram e acolheram no mestrado e estiveram sempre presentes, muito obrigada: **Talyta Jurkevicz, Vitor Kondo** e **Daniel Kohl**.

Aos amigos mestrandos da Periodontia, que acompanharam parte da minha trajetória: **Amanda Macedo**, **Caique Andrade**, **Cecy Amaral, Karine Ferreira**, **Rafael Cavallieri** e **Ricardo Arraes**, sou grata por ter conhecido vocês. Desejo sucesso a todos e espero reencontrá-los.

Aos **pós-graduandos egressos da Periodontia** que estiveram presentes durante minha graduação e parte da minha pós-graduação. A companhia, conselhos e amizades de vocês foram essenciais, muito obrigada.

Aos **alunos da graduação**, pela oportunidade de aprendizado mútuo.

Aos **pacientes**, pela confiança e oportunidade de aprendizado.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À **Faculdade de Odontologia de Bauru-USP**, em nome de seus dirigentes, o diretor **Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos** e à vice-diretora **Profa. Dra. Marilia Afonso Rabelo Buzalaf,** agradeço o comprometimento e dedicação às funções, e também pela disponibilização de infraestrutura adequada para a execução das pesquisas.

À **Profa. Dra. Izabel Regina Fischer Rubira de Bullen**, presidente da Comissão de Pós-Graduação, por todo suporte e atenção.

À **Profa. Dra. Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida**, chefe do departamento de Prótese e Periodontia, pelo apoio.

À **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão do Auxílio à Pesquisa (Processo 2017/07208-7) que possibilitou a realização deste trabalho.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo financiamento a esta pesquisa através da concessão de Bolsa de mestrado (Código de Financiamento 001).

"É o tempo da travessia:
e, se não ousarmos fazê-la,
teremos ficado, para sempre,
à margem de nós mesmos."

Fernando Pessoa

RESUMO

A periodontite e o diabetes são doenças de alta prevalência que se inter-relacionam como fatores de risco. O tratamento periodontal visa restabelecer a homeostasia do periodonto, atuando nos fatores que predispõem a inflamação local e, devido a isso, pode influenciar também na condição sistêmica. A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) é uma alternativa adjuvante ao tratamento periodontal convencional (raspagem e alisamento radicular - RAR), que visa potencializar os resultados, podendo gerar benefícios clínicos, microbiológicos e imunológicos, tanto em pacientes saudáveis, quanto em pacientes com comprometimento sistêmico. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da aPDT associada à RAR em pacientes saudáveis e com diabetes do tipo 1 (DM1), através da análise da melhoria dos parâmetros imunoinflamatórios (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α) do fluido crevicular gengival (FCG), comparando-os à profundidade de sondagem (parâmetro clínico periodontal). Trinta e oito pacientes foram divididos em 4 grupos: pacientes com DM1 submetidos à RAR (DRAR, n=8, 1.122 sítios); pacientes com DM1 submetidos à RAR e aPDT (DPDT, n=10, 1.524 sítios); pacientes sem diabetes submetidos à RAR (CRAR, n=10, 1.409 sítios); pacientes sem diabetes submetidos à RAR e aPDT (CPDT, n=10, 1.386 sítios). A aPDT foi executada imediatamente após a raspagem (Azul metileno 10mg/ml, laser vermelho, 100mW, 8J/dente, 4 sessões). Ao baseline, 3 e 6 meses foi avaliada a profundidade de sondagem (PS) e feita a coleta do FCG dos 3 sítios com maiores profundidade de sondagem e de hemiarcos diferentes. Foram coletados FCG de 24 pacientes (72 sítios) para quantificação dos biomarcadores inflamatórios através de imunoensaio multianalito Luminex. Para as análises estatísticas foram realizados testes paramétricos e não paramétricos e os resultados clínicos foram analisados pelo teste de análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas a dois critérios, complementados pelo teste de Fisher ($p<0,05$). Foi realizado a análise do alcance da meta clínica do estudo clínico randomizado (38 pacientes), pelo teste Qui-Quadrado, e as possíveis correlações entre a profundidade de sondagem e quantidade de citocinas inflamatórias pelo teste de correlação de Pearson ($p<0,05$). Em relação a profundidade de sondagem, houve diferença nas variáveis tempo e tratamento, sendo estatisticamente significante entre tratamentos RAR e RAR + aPDT ($p<0,05$). Na análise das dosagens das citocinas não houve diferenças significativas entre tempos ($p>0,05$), do baseline aos 6 meses. Na análise

do TNF-α a aPDT teve redução mais significativa que a RAR ($p<0,05$) e nas demais citocinas não houve diferenças significantes. Em relação ao alcance da meta clínica não houve diferença entre os grupos, os pacientes com e sem diabetes responderam de forma semelhante aos tratamentos. Concluindo, a utilização da aPDT como adjuvante ao tratamento periodontal pode ser benéfica, como uma ferramenta complementar ao tratamento, podendo gerar melhores resultados nos parâmetros clínicos e inflamatórios, o que seria importante principalmente nos pacientes com comprometimento sistêmico.

Palavras-chave: Periodontite. Diabetes mellitus tipo I. Fotoquimioterapia.

ABSTRACT

Inflammatory biomarkers in patients with type 1 diabetes mellitus treated by antimicrobial photodynamic therapy adjuvant to periodontal treatment

Periodontitis and diabetes are highly prevalent diseases and their risk factors are interrelated. Periodontal treatment aims to reestablish periodontal homeostasis, acting on factors that predispose to local inflammation and also influencing the systemic condition. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is an adjuvant alternative to conventional periodontal treatment (scaling and root planing - SRP). The purpose of this therapy is to enhance clinical, microbiological, and immunological results, both in healthy and systemically impaired patients. The aim of this study was to evaluate the effect of aPDT associated with SRP in healthy and type 1 diabetes (DM1) patients, through analysis of gingival crevicular fluid (GCF) immunoinflammatory parameters (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α), compared to probing depth (periodontal clinical parameter). Thirty-eight patients were divided into 4 groups: DM1 patients submitted SRP (DRAR, n=8, 1.122 sites); DM1 patients submitted SRP and aPDT (DPDT, n=10, 1.524 sites); without diabetes patients submitted SRP (CRAR, n=10, 1.409 sites); without diabetes patients submitted SRP and aPDT (CPDT, n=10, 1.386 sites). The aPDT was performed immediately after SRP (10mg/ml methylene blue, red laser, 100mW, 8J/tooth, 4 sessions). Probing depth (PD) was evaluated at baseline, 3 and 6 months, and the GCF was collected from the 3 sites greatest probing depth in different hemiarches. GCF were collected from 24 patients (72 sites) for inflammatory biomarkers quantification through the Luminex multianalyte immunoassay. Clinical results were analyzed by two-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) test, complemented by the Fisher test ($p<0.05$). The clinical outcome assessment was performed (38 patients) using the chi-square test, and Pearson correlation test ($p<0.05$) for possible correlations between probing depth and the number of inflammatory cytokines. In the probing depth parameter, there was a difference in the time and treatment variables, with a statistically significant difference between SRP and SRP+ aPDT treatments ($p<0.05$). In the cytokine dosage analysis, there were no significant differences between time ($p>0.05$), from baseline to 6 months. In the TNF-α analysis, there was a more significant reduction for aPDT than SRP ($p<0.05$) and for other cytokines there were no significant differences. In the clinical outcome

assessment, there was no difference between the groups, as patients with and without diabetes presented similar results to the treatments. In conclusion, the use of aPDT as an adjunct to periodontal treatment can be beneficial as a complementary tool to treatment, achieving better results in clinical and inflammatory parameters, being especially important in patients with systemic involvement.

Keywords: Periodontal disease. Diabetes Mellitus. Low-Level Light Therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma segundo o CONSORT, da distribuição do Estudo Clínico Randomizado (Cunha, 2019). 57

Figura 2 - Representação da aPDT: Irradiação do laser através de uma ponta de fibra óptica, atuando conjuntamente a um fotossensibilizador. 62

Figura 3 - Representação das diluições seriadas para preparo da Curva Padrão.....65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ensaios clínicos randomizados que utilizaram aPDT como terapia adjuvante ao tratamento periodontal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 43

Tabela 2 - Parâmetros do aparelho de laser e aplicação da aPDT.....62

Tabela 3 - Preparo da solução padrão 10X.....66

Tabela 4 - Diluições em série para o preparo da curva padrão.....66

Tabela 5 - Divisão dos grupos de estudo e número de pacientes (n) em cada grupo. 72

Tabela 6 - Profundidade de sondagem (PS) dos sítios onde houve coleta de citocinas no baseline e após 3 e 6 meses. 72

Tabela 7 - Dosagem de IL-1 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses 72

Tabela 8 - Dosagem de IL-4 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses 73

Tabela 9 - Dosagem de IL-6 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses 73

Tabela 10 - Dosagem de IL-8 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses 73

Tabela 11 - Dosagem de TNF-alfa (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses ...74

Tabela 12 - Redução (valores negativos) ou aumento (valores positivos) na profundidade de sondagem (PS em mm). 3 meses – baseline (3 – 0) e 6 meses – baseline (6 – 0). 75

Tabela 13 - Redução (valores negativos) ou aumento (valores positivos) das citocinas IL-1 e IL-4 (pg/ml/ng). 3 meses – baseline (3 – 0) e 6 meses – baseline (6 – 0). 75

Tabela 14 - Redução (valores negativos) ou aumento (valores positivos) das citocinas IL-6. 3 meses – baseline (3 – 0) e 6 meses – baseline (6 – 0). 76

Tabela 15 - Correlação de Pearson (valor de r) entre profundidade de sondagem (PS) e quantidade de citocinas para cada grupo experimental. 77

Tabela 16 - Alcance da meta clínica (≤4 sítios com PS≥ 5mm) referentes à condição sistêmica, após 6 meses.....78

Tabela 17 - Alcance da meta clínica (≤4 sítios com PS≥ 5mm) referentes ao tratamento, após 6 meses.....78

Tabela 18 - Alcance da meta clínica (≤4 sítios com PS≥ 5mm) referentes ao tratamento e condição sistêmica, após 6 meses.....78

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

$^1O_2$	Oxigênio singleto
AAP	American Academy of Periodontology
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGEs	Advanced Glycation End-products (Produtos finais da glicação avançada)
aPDT	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior
CIP	Centro Integrado de Pesquisa
cm^2	Centímetro quadrado
CONSORT	Consolidated Standards of Reporting Trials (Padrões Consolidados para Relatar Ensaios)
CPDT	Grupo de pacientes sem diabetes submetidos à aPDT e raspagem e alisamento radicular
CRAR	Grupo de pacientes sem diabetes submetidos à raspagem e alisamento radicular
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dp	Desvio Padrão
DP	Doença Periodontal
DPDT	Grupo de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 submetidos à aPDT e raspagem e alisamento radicular
Dr (a)	Doutor (a)
DRAR	Grupo de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 submetidos à raspagem e alisamento radicular
EFP	European Federation of Periodontology
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FCG	Fluido crevicular gengival

FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
G-CFS	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
HbA1c	Hemoglobina Glicada
$HO_2^{\bullet}$	Hidroperoxila
IDF	International Diabetes Federation
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
IL-17	Interleucina 17
IL-1RA	Antagonista de receptor de interleucina 1
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-4	Interleucina 4
IL-8	Interleucina 8
INF	Interferon
INF-γ	Interferon Gama
InGaAIP	Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo
IP	Índice de Placa
ISS	Índice de Sangramento à Sondagem
J	Joule
J/cm²	Joule por centímetro quadrado
JCE	Junção cemento-esmalte
LPS	Lipopolissacarídeo

IL-17	Interleucina 17
MCP-1	Proteína Quimiotática de Monócitos 1
Mg	Miligrama
min	Minutos
MIP-1a	Proteína Inflamatória de Macrófagos-1 alfa
mL	Mililitro
mm	Milímetros
MMPs	Metaloproteinases de matriz
N	Número amostral (quantidade de indivíduos)
NCI	Nível Clínico de Inserção
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
NK	Natural Killer
Nm	Nanômetro
O_2^-	Superóxido
OH^-	Hidroxila
OPG	Osteoprotegerina
P. gingivalis	Porphyromonas gingivalis
P. intermedia	Prevotella intermedia
PAI-1	Inibidor do Ativador do Plasminogênio Tipo 1
PBS	Solução Tampão Salina de Fosfato (Phosphate Buffered Saline
PCR	Proteína C Reativa
pg/mL	Picograma por Mililitro
pg/ml/ng	Picograma por Mililitro por Nanograma
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
OS	Profundidade de Sondagem
RAGE	Receptor para AGEs
RANKL	Ligante do Recetor Ativador do Fator Nuclear Kappa B
RAR	Raspagem e Alisamento Radicular
RNA	Ácido Ribonucleico

s	Segundos
SS	Sangramento à Sondagem
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF	Fator De Crescimento Transformador
Th1	Linfócito T helper 1
Th2	Linfócito T helper 2
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
USP	Universidade de São Paulo
W	Watt
W/cm²	Watt por Centímetro Quadrado
WHO	World Health Organization
µm	micrômetro

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
±	Desvio Padrão (mais ou menos)
γ	Gama
ºC	Graus Celsius
=	Igual
≥	Maior ou igual a
>	Maior que
+	Mais
®	Marca registrada
≤	Menor ou igual a
<	Menor que
%	Porcentagem
™	Símbolo Trademark (complemento à marca registrada)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 25

2 REVISÃO DE LITERATURA 31
2.1 Doença Periodontal 31
2.2 Diabetes 32
2.3 Diabetes tipo 1 e tipo 2 33
2.4 Diabetes e doença periodontal 34
2.5 Biomarcadores inflamatórios 35
2.5.1 Interleucina 1 Beta (IL-1β) 37
2.5.2 Interleucina 4 (IL-4) 37
2.5.3 Interleucina 6 (IL-6) 38
2.5.4 Interleucina 8 (IL-8) 38
2.5.5 Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF-α) 39
2.5.6 Biomarcadores, periodontite e diabetes 39
2.6 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT) 41

3 PROPOSIÇÃO 49
3.1 Objetivo Geral 49
3.2 Objetivos Específicos 49

4 MÉTODOS 53
4.1 Consentimento dos pacientes para a pesquisa - Aspectos Éticos 53
4.2 Amostra 53
4.2.1 Seleção dos pacientes 54
4.2.2 Composição e aleatorização da amostra 55
4.2.3 Cálculo amostral 56
4.3 Atendimentos 58
4.3.1 Avaliação Clínica Periodontal 58
4.4 Fluído Crevicular Gengival (FCG) 59
4.4.1 Preparo das amostras para coleta do fluido crevicular gengival 59
4.4.2 Coleta do fluido crevicular gengival 60

4.5 Terapia Periodontal 60
4.5.1 Protocolo de atendimentos 60
4.5.2 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT) 61
4.6 Reavaliações 63
4.7 Processamento e análise das amostras coletadas 63
4.7.1 Quantificação dos marcadores biológicos IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α: Imunoensaio multianalito Luminex 63
4.8 Análise Estatística 67

5 RESULTADOS 71

6 DISCUSSÃO 81

7 CONCLUSÕES 93

REFERÊNCIAS 97

ANEXOS 121

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença infecto-inflamatória que se caracteriza pelo comprometimento das estruturas de proteção e suporte do dente, incluindo o tecido gengival, osso, cemento e ligamento periodontal (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1994, SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005). Os principais sinais clínicos da periodontite incluem: inflamação gengival, bolsas profundas, perdas de inserção clínica e óssea, mobilidade, e, muitas vezes perda do elemento dental. O desenvolvimento da doença é resultante de um desequilíbrio na interação entre a microbiota periodontal e a resposta do sistema imune do hospedeiro, desencadeando uma superexpressão de citocinas pró-inflamatórias que gera a destruição do periodonto (EBERSOLE et al., 1997; LU ET AL., 2006; COSTA et al., 2013; MANRESA et al., 2018).

Vários fatores podem modificar a resposta do hospedeiro aos patógenos periodontais e, consequentemente, alterar a expressão e progressão da doença. O diabetes mellitus (DM) é reconhecido como um importante fator de risco para a periodontite (RODRIGUES et al., 2003; O'CONNELL et al., 2008). Evidências apontam para o caráter de risco bidirecional entre a doença periodontal e o diabetes. As alterações no sistema imune celular e humoral, devido à hiperglicemia, tornam o DM um fator de risco para a periodontite, assim como o caráter inflamatório da periodontite influencia no controle metabólico, no aumento da resistência à insulina e no risco para outras complicações diabéticas (IACOPINO, 2001; LAMSTER; LALLA, 2001; MEALEY; OATES, 2006; SIMA; GLOGAUER, 2013).

Estima-se que em 2.045 a prevalência do diabetes será de 700 milhões de pessoas, tornando a doença um dos principais problemas de saúde pública (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2021). O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) compreende 90% dos casos de diabetes da infância e 5 a 10% do diabetes juvenil (início da fase adulta), sendo que, 40% do DM1 ocorre até os 20 anos de idade (JAHROMI; EISENBARTH, 2007). A doença periodontal (DP) apresenta maior prevalência, incidência e severidade em pacientes com diabetes (TAYLOR, 2001), sendo reconhecida como a sexta complicação mais frequente do diabetes (LÖE, 1993).

O diabetes mellitus é uma doença de desordem metabólica, caracterizada pela hiperglicemia crônica como consequência do comprometimento na secreção ou ação da insulina (STUMVOLL; GOLDSTEIN; HAEFTEN, 2005; VAN BELLE; COPPIETERS; VON HERRATH, 2011). A insulina é produzida pelas células beta das ilhotas de Langerhans, no pâncreas, e a principal função é facilitar e permitir a interação e absorção da glicose através das membranas das células adiposas, hepáticas (SCHNEIDER; BERND; NURKIM, 1995; GUYTON; HALL, 1997; BRASILEIRO FILHO, 2000; TRAMONTINA et al., 1997) e musculares (GUYTON; HALL, 1997). No diabetes mellitus tipo 1 há a deficiência na produção de insulina (ADA, 2014), causada pela destruição das células β do pâncreas, decorrente da agressão imunológica mediada por células linfocitárias, macrófagos e células Natural Killer (NK), sendo assim, é um processo dependente da imunidade celular (ROSSI; MORY; DAVINI, 2008; EISENBARTH, 2004). Estudos mostram que o tratamento da periodontite em pessoas com diabetes resulta em melhor controle glicêmico (PRESHAW; BISSETT, 2019).

O objetivo do tratamento periodontal é obter a melhora dos parâmetros clínicos: profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e ganho de inserção. Estes resultados são alcançados quando os níveis, proporções e percentuais de sítios colonizados por diferentes patógenos periodontais são reduzidos, e uma nova comunidade microbiana, com maiores proporções de micro-organismos compatíveis com a saúde periodontal é estabelecida na cavidade oral (SOCRANSKY; HAFFAJEE 2005; TELES, HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2006).

A terapia periodontal convencional consiste na eliminação de placa e cálculo da superfície corono-radicular através da raspagem e alisamento radicular (RAR) (ZANDBERGEN et al., 2016), que pode ser realizada por meio de instrumentos manuais, apenas, ou em associação com instrumentos ultrassônicos (SALVI et al., 2020). Em locais com difícil acesso, como bolsas periodontais muito profundas e áreas de furca, existe a dificuldade de instrumentação que pode dificultar a obtenção do resultado desejado, portanto, a complementação do tratamento com terapias adjuvantes torna-se útil (FRANCO; DOS SANTOS; CANABARRO, 2019; SALVI et al., 2020). A utilização de antibióticos tem sido uma proposta de tratamento adjuvante ao tratamento periodontal (LOESCHE et al., 1984; RENVERT; DAHLÉN; WIKSTRÖM, 1996; STABHOLZ et al., 1998; CHAVES et al., 2000; ZANDBERGEN et al., 2016),

porém, o uso frequente não é aconselhável devido à possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana (RAMS; DEGENER; VAN WINKELHOFF, 2014; CAMPANILE et al., 2015). Desse modo, devido às limitações do tratamento convencional periodontal torna-se útil a busca por novas abordagens de tratamento.

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) tem sido proposta como uma alternativa coadjuvante ao tratamento da periodontite (SALVI et al., 2020). A aPDT consiste na utilização de laser de baixa potência, com comprimento de onda adequado, que em associação a um fotossensibilizador específico (corantes como o azul de toluidina, o azul de metileno, verde malaquita entre outros), gera uma reação fotoquímica que produz espécies reativas de oxigênio, que são citotóxicas para as células bacterianas locais, promovendo uma ação antimicrobiana (DOBSON; WILSON, 1992). Espera-se que esse procedimento não apenas reduza a carga bacteriana e a inflamação nos tecidos periodontais, mas também forneça efeitos bioestimuladores pela energia fotônica (SALVI et al., 2020).

O principal fator que determina a susceptibilidade dos microrganismos à terapia fotodinâmica antimicrobiana está na capacidade das bactérias em absorverem luz em um determinado comprimento de onda no momento da irradiação e, a forma de aplicação (contínua ou intermitente) e o tempo de exposição do laser utilizado também são fatores importantes. Outros fatores como pH, condutividade térmica, conteúdo de água e matéria orgânica, além da densidade de colônias bacterianas podem interferir também (WILSON, 1994).

A utilização do laser de baixa intensidade permite diferenciar os tecidos do hospedeiro aos das bactérias pela administração de fotossensibilizadores, os quais se unem aos microrganismos alvo. Estudos envolvendo modelos experimentais em animais e em humanos demonstram que a fotossensibilização letal pode erradicar microrganismos (MARTINETTO et al., 1986) e seu uso em diversos processos infecciosos pode ser preconizado (MALIK; HANANIA; NITZAN, 1990).

Quanto ao benefício adicional do uso da aPDT como adjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico alguns trabalhos mostraram não haver diferenças estatisticamente significativas (DE OLIVEIRA et al., 2007; AL-ZAHRANI et al., 2009; MACEDO et al., 2014), enquanto outros mostraram resultados vantajosos (RAMOS et

al., 2016 FONTES). Portanto, esse tema ainda é fonte de grande controvérsia na literatura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença Periodontal

A doença periodontal (DP) é uma doença resultante de uma interação complexa entre os microrganismos do biofilme e a resposta imunoinflamatória do hospedeiro (HAFFAJE; SOCRANSKY, 1994; KORNMAN, 2008; BARTOLD; VAN DYKE, 2013). Entre as formas da doença periodontal, a periodontite é caracterizada pela perda de inserção progressiva, formação de bolsas, perda de tecido conjuntivo e osso alveolar (KINANE et al., 2017).

A ação de moléculas, como citocinas e quimiocinas, está envolvida nas três fases de desenvolvimento da periodontite: inflamação, degradação do tecido conjuntivo e remodelação óssea alveolar (GEMMELL et al., 1997; SILVA et al., 2007; SEXTON et al., 2011). Essas moléculas (produzidas principalmente por linfócitos T e macrófagos) coordenam a migração e a manutenção dos diversos tipos celulares (leucócitos polimorfonucleares, células natural-killer, células dendríticas, macrófagos e linfócitos) no tecido gengival. Estas células participam da ação imune e inflamatória e são responsáveis pela apresentação de antígenos, produção de citocinas e eliminação do patógeno. Este mecanismo de recrutamento seletivo dos tipos celulares pode determinar a progressão, ou não, da doença (GARLET et al., 2003). A determinação dos níveis de mediadores inflamatórios em fluidos biológicos é um bom indicador de atividade inflamatória (TABA et al., 2005).

Os patógenos relacionados à doença periodontal são bactérias gram-negativas, que possuem na membrana externa o lipopolissacarídeo (LPS). O LPS é uma endotoxina que tem a capacidade de induzir a expressão de agentes pró-inflamatórios no fluído crevicular gengival, como a interleucina (IL) -1, IL-1β, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF-α), prostaglandinas e metaloproteinases de matriz (MMPs) (COSTA et al., 2010; BOSTANCI et al., 2017), estimulando o processo inflamatório que pode desencadear a destruição dos tecidos periodontais (ERTUGRUL et al., 2012; DUARTE et al., 2015; MOURA et al., 2017; COSTA et al., 2019). Em um estágio mais avançado, a periodontite pode desencadear a perda dentária, reduzindo a qualidade de vida dos pacientes (WRIGHT et al., 2017).

Há evidências que a progressão da periodontite ocorre como resultado da resposta imune do hospedeiro às toxinas e aos fatores de virulência liberados pelos patógenos. A resposta do hospedeiro diante da agressão dos microrganismos estimula o recrutamento de células que participam ativamente do processo inflamatório e do sistema imunológico, como os neutrófilos polimorfonucleares, monócitos, linfócitos e plasmócitos. Essas células, juntamente com outras presentes no periodonto (células endoteliais, fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos, osteócitos e osteoclastos), produzem mediadores imunoinflamatórios, como citocinas e enzimas proteolíticas, que são biomarcadores presentes na patogênese da periodontite (ALBIGER et al., 2007).

Estudos têm demonstrados que fatores sistêmicos e comportamentais podem interferir nos mecanismos de defesa do hospedeiro contra os patógenos, alterando a susceptibilidade ao desenvolvimento da doença (MERCADO; MARSHALL; BARTOLD et al., 2003, CHOI et al., 2011; PALIOTO et al., 2019)

2.2 Diabetes

O diabetes é uma doença de disfunção metabólica, de etiologia múltipla, caracterizada por hiperglicemia crônica (níveis elevados de glicose no sangue) com comprometimento no metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, que é resultante de problemas na secreção ou atuação da insulina (WHO, 1999). O diabetes não tratado pode gerar complicações significativas na saúde, podendo comprometer o sistema cardiovascular, causar nefropatias, retinopatia, doença cerebrovascular (acidente vascular cerebral e/ou disfunção cognitiva), acometer os membros inferiores (doença vascular periférica), afetar o sistema imunológico (aumento do risco a infecções) e, até mesmo falência de órgãos (WHO, 1999).

Em 2017, a Federação Internacional de Diabetes declarou que 425 milhões de pessoas, em todo o mundo (8,8% dos adultos de 20 a 79 anos), têm diabetes, e a previsão é que sejam 700 milhões até 2045 (IDF, 2020). No Brasil o diabetes também é reconhecido como um importante problema de saúde pública, com prevalência de 6,2%, segundo a Pesquisa Nacional de Saúde de 2013 - PNS 2013 (ISER et al., 2015; MUZY et al., 2021).

A alta prevalência e as complicações do diabetes reforçam a necessidade de investimentos na prevenção, no controle e nos cuidados longitudinais (FLOR; CAMPOS, 2017). É uma enfermidade que precisa ser acompanhada a partir de um conjunto de ações efetivas na atenção básica (ARRUDA et al., 2018). Tendo em vista que aproximadamente 50% dos diabéticos desconhecem ter diabetes (BEAGLEY et al., 2014), o diagnóstico e acompanhamento de pessoas em risco, através de exames, é uma das principais medidas para prevenção e tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

A mensuração da hemoglobina glicada (HbA1c) é um exame de rotina na prática médica, como parte da avaliação geral. Esse exame avalia a quantidade de hemoglobina que se tornou glicada, isto é, quimicamente ligada à glicose, fornecendo uma indicação dos níveis de glicose no sangue ao longo dos últimos três meses. É importante que os cirurgiões dentistas estejam familiarizados com os valores de referência nessa avaliação, sendo 48 mmol / mol (6,5%) o valor máximo que indicaria ausência de diabetes (WHO, 2011).

Nos pacientes com diabetes e controle glicêmico deficiente os indicativos de periodontite tendem a ser mais pronunciados (SASTROWIJOTO et al., 1990), pois a resposta inflamatória frente aos patógenos é mais exacerbada. Esses pacientes podem ter níveis elevados de mediadores pró-inflamatórios, o que levaria a uma maior destruição tecidual, caracterizando o elevado risco de progressão da doença periodontal (LIU, et al., 2006; MEALEY, 2006).

2.3 Diabetes tipo 1 e tipo 2

O diabetes tipo 1, antigamente denominado diabetes mellitus insulino-dependente, é caracterizado pela deficiência na secreção de insulina pelo pâncreas, consequência da destruição autoimune das células β das ilhotas de Langerhans, no pâncreas (PRESHAW; BISSETT, 2019). Essa deficiência de insulina leva à incapacidade de controlar os níveis de glicose no sangue e, com isso, ao desenvolvimento de hiperglicemia. Acredita-se que sua etiologia esteja relacionada à associação de predisposição genética a um gatilho ambiental (muito provavelmente uma infecção por um enterovírus). Esse tipo de diabetes tende a se desenvolver

principalmente na infância, adolescência ou em adultos jovens e é responsável por 5–10% de todos os casos de diabetes (WHO, 2006).

O diabetes tipo 2, antigamente denominado diabetes mellitus não insulino-dependente, é responsável por cerca de 90% dos casos de diabetes (WHO, 1999). Neste caso, ocorre uma resistência do organismo aos efeitos da insulina, causada inflamação sistêmica crônica relacionada, principalmente, ao sobrepeso, o que resulta numa condição hiperglicêmica. Portanto, neste caso, a etiologia está associada a fatores relacionados ao estilo de vida, como sobrepeso e sedentarismo (PRESHAW; BISSETT, 2019). A incidência do diabetes tipo 2 aumenta com a idade, sendo a maioria dos casos diagnosticados após os 40 anos.

2.4 Diabetes e doença periodontal

O risco ao desenvolvimento da periodontite é de duas a três vezes maior em pessoas com diabetes, e o nível de controle glicêmico é fundamental para determinar o risco. O tratamento periodontal resulta em melhor controle glicêmico, podendo gerar reduções de HbA1c de 3-4 mmol / mol (0,3-0,4%) no curto prazo (3-4 meses) pós-tratamento periodontal (PRESHAW; BISSETT, 2019), porém, não há evidências sobre a permanência desses resultados após 4 meses (SIMPSON et al., 2010).

Em 1990 a periodontite foi considerada a sexta maior complicação do diabetes, após as complicações de retinopatia, neuropatia, nefropatia, doença macrovascular e microvascular (doença cerebrovascular) e alteração na cicatrização de feridas (LOE, 1993). Atualmente há evidências de que a associação entre as duas doenças é mais complexa, uma relação bidirecional, na qual cada uma exerce impactos negativos na outra (PRESHAW; BISSETT, 2019).

O diabetes como fator de risco ao desenvolvimento da periodontite é explicado pelo fato de que, no diabetes, ocorre o aumento da deposição de produtos finais da glicação avançada (AGEs) nos tecidos periodontais, e as interações entre os AGEs e seu receptor (RAGE, encontrado em macrófagos) levam à ativação do sistema imunológico local e respostas inflamatórias (LALLA et al., 2001; PRESHAW; BISSETT, 2019). Isso resulta no aumento da secreção de citocinas, como interleucina-

1β (IL-1β), fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e IL-6, aumento do estresse oxidativo, proteína C reativa (PCR) e interrupção do ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B / osteoprotegerina (RANKL / OPG), favorecendo a reabsorção óssea e progressão da periodontite (POLAK; SHAPIRA, 2018; TAYLOR; PRESHAW; LALLA, 2013). Após o tratamento periodontal ocorre uma redução nos níveis desses mediadores inflamatórios (POLAK; SHAPIRA, 2018).

Em contrapartida, analisando o impacto da periodontite sobre o diabetes, o mecanismo postulado é de que os patógenos periodontais, seus produtos e os mediadores inflamatórios entram no sistema circulatório e contribuem para o desenvolvimento da inflamação sistêmica, o que levaria ao comprometimento da sinalização da insulina e à resistência à insulina, exacerbando o diabetes (POLAK; SHAPIRA, 2018).

Recentemente, com a Nova Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Periimplantares (CATON et al., 2018), desenvolvida após o Workshop Internacional da European Federation of Periodontology (EFP) em conjunto com a American Academy of Periodontology (AAP), foi elaborado um guia para a implementação da nova classificação na prática odontológica. O novo sistema classifica a periodontite conforme a extensão, gravidade e risco, e o diabetes deve ser reconhecido como um fator de risco modificador importante e incluído no diagnóstico e planejamento clínico da periodontite (JEPSEN et al., 2018).

2.5 Biomarcadores inflamatórios

A inflamação é um mecanismo fisiológico complexo, mediado por células e componentes específicos que visam o restabelecimento tecidual. A inflamação aguda é a resposta imediata, com predominância do infiltrado neutrofílico, que após 24 a 48 horas predominam as células monocíticas (RYAN; MAJNO, 1977; DOHERTY et al., 1988; MELNICOFF; HORAN; MORAHAN, 1989). Em contrapartida, a inflamação crônica está associada à presença de células mononucleares, como macrófagos e linfócitos (RYAN; MAJNO, 1977; DOHERTY et al. 1988).

Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de compreender a etiopatogênese das doenças periodontais, através da análise dos mecanismos

celulares e moleculares envolvidos na resposta imunoinflamatória. A identificação e quantificação de biomarcadores que atuam no estado de saúde e de doença periodontal, como por exemplo, as citocinas, é uma das formas de análises deste processo biológico, e diferentes fontes são utilizadas para essa avaliação, como o tecido gengival, fluido crevicular gengival (DUARTE et al., 2015), saliva (JAEDICKE et al., 2016) e soro (PUSSINEN et al., 2007).

O processo de formação de proteínas se inicia pela transcrição, que consiste na transferência da informação presente no DNA para a formação do RNA mensageiro. A tradução, por sua vez, é o processo mediado por moléculas de RNA, que resulta na formação das proteínas envolvidas nos processos fisiológicos e patológicos do organismo (KOVARIK et al., 2017). As citocinas são produzidas por diferentes tipos celulares, atuam em receptores específicos e modulam a função da própria célula ou de outras células, proporcionando a sinalização intracelular que é capaz de ativar os fatores de transcrição (DINARELLO, 2007). A superfamília das citocinas, que inclui interleucinas (IL), quimiocinas, fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CFS), interferons (INF), fatores de crescimento transformador (TGF) e fatores de necrose tumoral (TNF), pode apresentar propriedades pleiotrópicas (ações biológicas múltiplas), redundantes (ações biológicas compartilhadas), antagônicas e/ou sinérgicas, assim como atividades pró ou anti-inflamatórias (DINARELLO, 2007; FIETTA et al., 2015; MONASTERO; PENTYALA, 2017).

Existe uma complexa rede de citocinas que atua no início e na progressão da periodontite (OKADA; MURAKAMI, 1998; STADLER, et al., 2016). A estimulação e liberação de citocinas pró-inflamatórias é um passo essencial para a ativação da defesa inata do hospedeiro, e subsequentemente, para a modulação das respostas imunes adaptativas.

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular com diversas funções metabólicas e endócrinas que participam da inflamação e resposta do sistema imune (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006). As principais fontes de citocinas (adipocinas/adipocitocinas) são os tecidos adiposos subcutâneo e visceral. Assim, a massa aumentada de tecido adiposo está associada com alterações na produção de adipocina, como superexpressão de TNF-α, IL-6, PAI-1 (Inibidor do Ativador do Plasminogênio tipo 1), e subexpressão de adiponectina em tecido adiposo (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006).

Evidências apontam para a regulação da função endotelial pela insulina e adipocinas, como adiponectina, leptina, resistina, IL-6 e TNF-α, visto que, a redução da massa de tecido adiposo, através de redução de peso, reduz TNF-α, IL-6 e PAI-1 (inibidor do ativador do plasminogênio), aumenta a adiponectina, e está associada com a melhora da sensibilidade à insulina e função endotelial (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006).

2.5.1 Interleucina 1 Beta (IL-1β)

A interleucina 1 beta (IL-1β) é uma citocina pró-inflamatória liberada por monócitos, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais, durante a lesão celular, infecção e inflamação. Possui atuação importante na indução da resposta inflamatória e imunológica aos antígenos, estando relacionada ao aumento dos níveis de prostaglandinas, metaloproteinases, citocinas pró-inflamatórias como TNF-α e IL-6, e biomarcadores relacionados à osteoclastogênese (DINARELLO, 1996).

A IL-1β possui como antagonista a IL-1RA, que se liga de forma competitiva ao seu receptor sem desencadear sinal celular, bloqueando, assim, as alterações intracelulares mediadas pela IL-1β (DINARELLO, 1996; DINARELLO, 2007; NETEA et al., 2010).

2.5.2 Interleucina 4 (IL-4)

A interleucina 4 (IL-4) é uma citocina com propriedades anti-inflamatórias, que atua na regulação das respostas imunes e em processos alérgicos. Está envolvida no crescimento das células B e na diferenciação da resposta Th2. Nas células B ativadas, estimula a síntese de IgE e de IgG, tendo efeito antagonizado pelo INF-γ. A IL-4 atua inibindo a ativação de macrófagos pelo bloqueio dos efeitos de INF-γ e a estimulação da expressão de moléculas de adesão em células endoteliais, favorecendo a adesão de linfócitos, monócitos e eosinófilos no processo inflamatório (PRADEEP; ROOPA; SWATI, 2008).

2.5.3 Interleucina 6 (IL-6)

A IL-6 é uma citocina multifuncional que regula diversos processos. Atua como fator estimulador para as células B, inicia a produção de IgG, estimula o desenvolvimento de órgãos, regeneração tecidual, respostas de fase aguda, inflamação e respostas imunes, estando presente intensamente durante infecções e inflamação (SU et al., 2017). A desregulação da IL-6 está associada à uma série de doenças autoimunes e inflamatórias. Apresenta uma atuação complexa, pois, além de suas propriedades pró-inflamatórias, também apresenta efeitos anti-inflamatórios em determinadas situações. A sinalização clássica da IL-6 é anti-inflamatória, e envolve a síntese de proteínas de fase aguda nos hepatócitos, que possuem propriedades anti-inflamatórias e são indispensáveis para a defesa imune. Em contrapartida, a sinalização trans da IL-6 é pró-inflamatória, e está envolvida na sinalização de várias doenças inflamatórias e autoimunes, inclusive cânceres associados à inflamação (SU et al., 2017).

2.5.4 Interleucina 8 (IL-8)

A IL-8 é uma citocina pró-inflamatória secretada por diversas células, incluindo células mesoteliais, células tumorais, neutrófilos, células endoteliais e monócitos (BAGGIOLINI et al., 1997). Essa citocina responde aos sinais inflamatórios por meio de duas ações biológicas primárias: a indução da atividade migratória e fagocítica em células-alvo e a promoção da angiogênese. Tem um papel importante como agente quimioatrativo e ativador de neutrófilos. Assim que as células-alvo atingem o local da inflamação, a IL-8 induz a atividade fagocítica dessas células. É um potente promotor da angiogênese pela ativação da via do fator de crescimento endotelial vascular (DONG; ZHENG, 2015).

A síntese de IL-8 pelo epitélio juncional, adjacente à superfície do dente, é considerada uma característica importante do periodonto saudável porque gera um recrutamento de neutrófilos para o sulco gengival (HAJISHENGALLIS, 2012).

2.5.5 Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF-α)

TNF-α é uma citocina pró-inflamatória clássica envolvida nas respostas imune, inata e Th1. Regula diversas funções celulares, incluindo proliferação celular, apoptose e, juntamente com a IL-1, exerce função inflamatória em células endoteliais, leucócitos e fibroblastos. O TNF-α tem efeitos multibiológicos, estimulando uma cascata de sinalização complexa que controla várias funções intracelulares. O principal papel consiste na defesa do hospedeiro em estados inflamatórios, infecciosos e neoplásicos, uma vez que apresenta uma gama de efeitos imunológicos, incluindo ação antiviral, regulação do crescimento e imunomodulação. Entre os mediadores inflamatórios, o TNF-α, que é produzido por adipócitos, é um possível candidato a induzir resistência insulínica. Foi observado que a neutralização dos efeitos do TNF-α, em ratos obesos, provocou aumento da sensibilidade insulínica (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006).

Os macrófagos ativados são os principais produtores de TNF-α, mas essa citocina pode também ser produzida por vários tipos celulares, como linfócitos, miócitos cardíacos, células endoteliais, mastócitos, fibroblastos, neurônios e adipócitos. O aumento da produção de TNF-α tem sido relacionado à patogênese de vários distúrbios, como artrite reumatóide, doença de Crohn, espondiloartropatias, psoríase, periodontite, aterosclerose, diabetes mellitus e síndrome metabólica (ROSENBLUM; DONATO, 1989; ŠEDÝ et al., 2014).

2.5.6 Biomarcadores, periodontite e diabetes

Loos et al. (2000) reportaram a presença de maiores níveis séricos de IL-6 em pacientes com periodontite. Posteriormente, Górska et al. (2003) avaliaram os níveis séricos de IL-1β, IL-2, INF-γ, TNF-α, IL-4 e IL-10 em pacientes com periodontite e, com exceção da IL-4, o nível de todas as citocinas foi maior em pacientes com a doença.

Ikezawa et al. (2005) e Yamazaki et al. (2005) não reportaram diferenças nos níveis séricos de TNF-α e IL-6 em pacientes com e sem periodontite. Em contrapartida, Sun et al. (2019), Marcaccini et al. (2009), Shimada et al. (2010)

relataram maiores níveis séricos de IL-6 em pacientes com periodontite. Duarte et al. (2010) relataram que indivíduos com periodontite agressiva apresentaram níveis mais elevados de TNF-α do que indivíduos com periodontite crônica e os sem periodontite. Por outro lado, Becerik et al. (2012) não observaram diferenças estatísticas entre os níveis plasmáticos de IL-1β e IL-6 entre pacientes com diferentes tipos de doenças periodontais (periodontite crônica, periodontite agressiva generalizada e gengivite) e saúde periodontal.

Boström et al. (2015) compararam os níveis séricos das citocinas IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, TNF-α, INF-γ e MIP-1α, por meio do ensaio Multiplex, em pacientes com e sem periodontite, e observaram que os níveis de nenhuma citocina foram diferentes entre os grupos. Em relação ao diabetes mellitus tipo 2, Dağ et al. (2009) não observaram diferenças nos níveis sistêmicos de TNF-α entre pacientes com DM e pacientes sem diabetes, com periodontite. Em 2014, Longo et al. avaliaram a influência do DM2 controlado e não controlado associado a periodontite nos níveis séricos de IL-6, IL-8 e MCP-1 e não encontraram diferenças entre os grupos para essas citocinas.

Acharya et al. (2017) compararam os níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias (IL-1β, IL-6 e TNF-α) e as anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) entre pacientes com DM2 portadores ou não de periodontite, e pacientes sem DM com e sem periodontite. Como resultados observaram que as citocinas pró e anti inflamatórias foram menores no grupo controle (sem diabetes) do que em relação aos pacientes com diabetes.

Raunio et al. (2009) demonstrou que alguns pacientes com DM1 podem ter polimorfismos genéticos que acentuam a resposta do hospedeiro, como o genótipo IL-6, e que também pode predizer a susceptibilidade à doença periodontal. Pacientes com DM1 podem ter maior probabilidade de ter um nível diminuído de osteocalcina, um marcador de formação óssea, significando uma diminuição da capacidade de formar osso em pacientes com DM1 com ou sem periodontite (LAPPIN et al. 2009).

2.6 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT)

A instrumentação mecânica subgengival não cirúrgica visa a eliminação dos fatores etiológicos da doença periodontal, na superfície radicular, e é o tratamento padrão para a doença periodontal (BADERSTEN; NILVEUS; EGELBERG, 1984). No entanto, em locais com acesso prejudicado, como bolsas periodontais profundas e áreas de furca, há a predisposição ao desenvolvimento da microbiota patogênica, assim, torna-se necessária uma complementação ao tratamento mecânico, visando a redução desses microrganismos. (CAFFESSE; SWEENEY; SMITH, 1986; ODA; ISHIKAWA, 1989). Portanto, o uso adjuvante de lasers e terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) tem sido proposto como abordagem adjuvante para instrumentação mecânica não cirúrgica (MIZUTANI et al., 2016; PRATES et al., 2011; ALVARENGA et al, 2019)

A Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (Antimicrobial Photodynamic Therapy – aPDT) consiste numa reação fotoquímica, gerada através da associação do laser a um fotossensibilizador, com propriedades antimicrobianas. Para a realização desta reação, o fotossensibilizador (corante) se liga às células-alvo e através da irradiação do laser de baixa frequência, com comprimento de onda específico, é gerado uma reação fotoquímica que produz espécies reativas de oxigênio citotóxicas para as células bacterianas. (NÚÑEZ et al., 2008; PRATES et al., 2011).

Trabalhos que analisaram a utilização da aPDT como coadjuvante ainda são controversos. Há estudos mostrando resultados positivos da aPDT na melhora dos parâmetros clínicos e microbiológicos (SIGUSCH et al., 2010; MONGARDINI; DI TANNA; PILLONI, 2014; PETELIN et al., 2015, VALLE et al., 2019), redução de mediadores inflamatórios (LUI; CORBET; JIN, 2011; LUCHESI et al., 2013; KOLBE et al., 2014; MULLER CAMPANILE et al., 2015) aumento nos fatores de crescimento (SOUZA et al., 2013) e aumento na expressão de genes que regulam a formação óssea (ANDRADE et al., 2013; FRANCO; DOS SANTOS; CANABARRO, 2019). Em contrapartida, outros não evidenciaram melhorias clínicas nem microbiológicas (de OLIVEIRA et al., 2007; POLANSKY et al., 2009; AL-ZAHRANI et al., 2009; RÜHLING et al., 2010; BALATA et al., 2013; QUEIROZ et al., 2014; MACEDO et al., 2014).

Revisões sistemáticas já relataram que o uso da aPDT em conjunto com a raspagem e alisamento radicular é associado a ganho clínico de inserção e redução

na profundidade de sondagem (ATIEH, 2010; SGOLASTRA et al., 2013a; SGOLASTRA et al., 2013b).

Na revisão sistemática de Chambrone et al. (2018) obtiveram como resultados, a partir do uso aPDT, a obtenção de melhorias em NCI e PS (<1mm) quando comparados ao tratamento convencional na periimplantite e periodontite.

A aPDT mostrou ter um efeito adicional na resposta imunomodulatória do hospedeiro (DA CRUZ ANDRADE et al., 2017), com modulação significante das citocinas IL-1α, IL-1β, IL-8. Os autores citaram que a aPDT é capaz de aumentar a capacidade imunomodulatória do tecido, diminuindo o estímulo aos linfócitos T e inativando marcadores pró-inflamatórios.

Akram et al. (2016) relataram, em uma revisão sistemática, que a aPDT proporcionou redução significativa de proteínas inflamatórias, como IL-1β, TNF-α, Interferon-γ, IL-8.

Na revisão sistemática com meta-análise de Salvi et al. (2020) os autores concluem que as evidências sobre efeitos da terapia a laser e aPDT como adjuvantes são comprometidas por muitos fatores, como a existência de uma variação nos protocolos específicos e técnicas de utilização do laser, assim como na frequência do tratamento periodontal, portanto, não há, ainda, evidências suficientes que indiquem a superioridade dos resultados a partir da complementação do tratamento por essas terapias.

Estudos que avaliaram o uso de aPDT como terapia adjuvante no tratamento da periodontite em pacientes com diabetes mostraram resultados contraditórios (AL-ZAHRANI et al., 2009; OLIVEIRA MACEDO et al., 2014; RAMOS et al., 2016; DOS SANTOS et al., 2016; BARBOSA et al., 2018; MIRZA et al., 2019) (Tabela 1).

A aPDT pode ser uma terapia promissora como adjuvante à raspagem e alisamento radicular, principalmente em pacientes com comprometimento sistêmico, como o diabetes mellitus por exemplo. Essa terapia tem como objetivo ser uma alternativa complementar, e não um substituto, ao tratamento convencional (raspagem e alisamento radicular).

Tabela 1: Ensaios clínicos que utilizaram aPDT como terapia adjuvante ao tratamento periodontal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2

Autores	Desenho do estudo	n	Laser (nm)	Dosimetria	Fonte de luz	Corante	Concentra-ção do corante	Tempo de irradiação (segundos)	Frequên-cia da apdt	Parâmetros avaliados	Principais resultados
dos Santos et al., 2016	Boca-dividida	20	670	60mW 129 J/cm²,	Fibra óptica	Azul de metileno	0,01%	10/sítio	1	Clínicos: PS e NCI	Não houve diferença significativa com a utilização da aPDT
Ramos et al., 2016	paralelo	30	670	70 mW 16,72 J/cm²	Fibra óptica	Cloreto de fenotiazina	1%	10/sítio	4	Inflamatórios: IL1-b, TNF-a e TGF-b Clínicos: PS, SS, supuração, recessão e NIC	Melhoria clínica (PS) nas bolsas moderadas
Al-Zahrani et al.,2009	paralelo	45	670	NC	NC	Azul de metileno	0,01%	10/sítio	1	HbA1c Clínicos: PS, SS, NIC, IP	Sem diferença clínica entre os tratamentos (antibioticoterapia e aPDT)
de Oliveira Macedo et al., 2014	paralelo	30	660	60 mW 16,72 J/cm²	Fibra óptica	Cloreto de fenotiazina	1%	10/sítio	1	Clínicos: PS, NIC, SS, IP, nível de HbA1c	Redução na HbA1c, sem diferenças clínicas relevantes na comparação entre os tratamentos

NC: não consta; PS: profundidade de sondagem; NIC: nível de inserção clínica; SS: sangramento à sondagem; HbA1c: hemoglobina glicada; IP: Índice de placa.

Continua...

Tabela 1: Ensaios clínicos que utilizaram aPDT como terapia adjuvante ao tratamento periodontal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2

Autores	**Desenho do estudo**	**n**	**Laser (nm)**	**Dosimetria**	**Fonte de luz**	**Corante**	**Concentra-ção do corante**	**Tempo de irradiação (segundos)**	**Frequên-cia da apdt**	**Parâmetros avaliados**	**Principais resultados**
Al-momani 2021	paralelo	50	810	200 mW 4J/dente	Fibra óptica	Indociani-na verde	0,005 %	10/sítio	1	Clínicos: PS, SS, NIC Microbiológicas: *P. gingivalis* e *T. forsythia* Imunológicos: IL-17, IFN-γ	Melhora dos parâmetros clínicos e microbiológicos em DM2. O estado glicêmico não impactou na redução dos parâmetros periodontais
Cláudio 2021	paralelo	34	660	100 mW 4,7 J/dente	Fibra óptica	Azul de metileno	1%	50/sítio	3	Análises clínicas: PS, SS e NIC Microbiológicas: *P. gingivalis* e *P. intermedia*	O uso de aPDT em pacientes com diabetes descontrolada promove benefícios clínicos adicionais. Não houve diferenças significativas na análise microbiológica
Evangelista et al., 2015	paralelo	26	660	100 mW, 22 J/cm²	Fibra óptica	azul de metileno	0,005%	15/sítio	4	HbA1c, IL-, IL-6, TNF-a, RANKL	Protocolo registrado no Clinical Trials

NC: não consta; PS: profundidade de sondagem; NIC: nível de inserção clínica; SS: sangramento à sondagem; HbA1c: hemoglobina glicada, IP: Índice de placa

Continua...

Tabela 1: Ensaios clínicos que utilizaram aPDT como terapia adjuvante ao tratamento periodontal em pacientes com diabetes mellitus tipo 2

Autores	**Desenho do estudo**	**n**	**Laser (nm)**	**Dosimetria**	**Fonte de luz**	**Corante**	**Concentra-ção do corante**	**Tempo de irradiação (segundos)**	**Frequên-cia da apdt**	**Parâmetros avaliados**	**Principais resultados**
Mirza et al 2019	paralelo	30	670	150 mW 22J/cm²	Fibra óptica	Azul de metileno	0,005%	10/sítio	1	HbA1c produtos finais da glicação avançada (AGE) Clínicos: PS, NCI, SS, IP	Pequena redução de AGE no FCG com aPDT a curto prazo. Nenhum benefício clínico e sistêmico (HbA1c) foi observado com aPDT
Barbosa et al. 2018	paralelo	12	660	40 mW 4,8 J	Ponta difusora	Azul de metileno	1%	20/sítio	1	HbA1C e frutosamina. Clínicos: PS, SS, NIC, IP	Nenhum benefício nos parâmetros clínicos e metabólicos

NC: não consta; PS: profundidade de sondagem; NIC: nível de inserção clínica; SS: sangramento à sondagem; HbA1c: hemoglobina glicada, IP: Índice de placa

...continuação

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana como adjuvante ao tratamento periodontal, em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e sem diabetes, analisando os parâmetros inflamatórios em relação à profundidade de sondagem.

3.2 Objetivos Específicos

- Comparar os níveis das citocinas inflamatórias em relação à profundidade de sondagem, antes e após a realização dos tratamentos (raspagem apenas e aPDT associada à raspagem) em pacientes com DM1 e sem diabetes;
- Analisar a estabilidade dos resultados através dos acompanhamentos de 3 e 6 meses;
- Avaliar o alcance da meta clínica (FERES et al., 2020): ≤ 4 sítios com profundidade de sondagem ≥ 5 mm; analisando a quantidade de pacientes que atingiram o desfecho clínico almejado, na comparação da condição sistêmica e tipo de tratamento realizado.

4 MÉTODOS

4 MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB-USP (65048317.5.0000.5417 – Parecer 1.959.932) (Anexo 1), está registrado no Clinical Trials.gov: NCT 03102892 e teve auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo número 2017/07208-7.

4.1 Consentimento dos pacientes para a pesquisa - Aspectos Éticos

Todos os pacientes foram informados sobre a pesquisa (objetivos, benefícios, tipos de tratamentos e prognóstico) e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 2).

4.2 Amostra

Este estudo constitui uma parte de outro trabalho. A parte clínica foi realizada no trabalho de Cunha (2019) e neste estudo foi feita a análise das citocinas inflamatórias, correlacionando a profundidade de sondagem com a quantidade de citocinas presentes no fluido crevicular gengival, que foram coletadas no estudo clínico (Cunha, 2019).

O desfecho clínico do estudo foi avaliado a partir da porcentagem de indivíduos que atingiram a meta clínica pelo tratamento (FERES et al., 2012; FERES, 2020). A meta almejada seria a obtenção de ≤4 locais com PS ≥5 mm e redução no número médio de sítios com PS ≥6mm ao longo do tempo.

4.2.1 Seleção dos pacientes

Primeiramente foi feita a divulgação (em mídias sociais, rádio e tv) da seleção de pacientes para o estudo. Em datas pré-definidas foram realizadas as triagens para avaliação e seleção dos pacientes que correspondessem aos critérios de inclusão da pesquisa. A avaliação foi composta por anamnese, exame clínico e, para aqueles que foram selecionados a partir dos critérios de inclusão, foi esclarecido todos os aspectos da pesquisa, para que o paciente decidisse sobre sua participação.

Critérios de inclusão para o grupo teste (com DM1) (Cunha, 2019):

- Diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 1 realizado por endocrinologista;
- Idade entre 18 e 70 anos;
- Presença de ao menos 4 (quatro) dentes, sendo, pelo menos um por hemi-arco (excluindo os terceiros molares);
- Pacientes que apresentassem sinais de doença periodontal (gengivite e/ou periodontite).

Critérios de exclusão para o grupo teste (com DM1) (Cunha, 2019):

- Diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2;
- Desdentados totais;
- Fumantes;
- Grávidas;
- Portadores de outras doenças sistêmicas, como distúrbios endócrinos, além do diabetes, ou discrasias sanguíneas como anemia, hemofilia, plaquetopenia;
- Uso de medicamentos que alterem a fisiologia do tecido gengival como fenitoínas e ciclosporinas.

Os voluntários do grupo controle foram pacientes que buscaram atendimento na clínica de Periodontia da faculdade.

Critérios de inclusão para o grupo controle (sem diabetes) (Cunha, 2019):

- Idade entre 18 e 70 anos;
- Presença de no mínimo um dente por hemi-arco (excluindo terceiros molares)
- Com sinais clínicos de doença periodontal (gengivite e/ou periodontite)

Critérios de exclusão para o grupo controle (sem diabetes) (Cunha, 2019):

- Diagnóstico de qualquer alteração sistêmica;
- Desdentados totais;
- Fumantes;
- Grávidas;
- Uso de medicamentos que alterem a fisiologia do tecido gengival como fenitoínas e ciclosporinas.

4.2.2 Composição e aleatorização da amostra

A aleatorização dos pacientes se deu conforme as recomendações do CONSORT, conforme fluxograma (Figura 1) (Cunha, 2019). Trinta e oito pacientes corresponderam aos critérios de inclusão e foram divididos nos seguintes grupos:

Grupo Teste (pacientes com diabetes tipo1 – n=18, 2.646 sítios)

- DRAR (n=8, 1.122 sítios): Pacientes com DM1 que foram submetidos à terapia convencional para tratamento periodontal (raspagem e alisamento radicular)
- DPDT (n=10, 1.524 sítios): Pacientes com DM1 que foram submetidos à terapia convencional para tratamento periodontal (raspagem e alisamento radicular) e à Terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT)

Grupo Controle (pacientes sem diabetes – n=20, 2.795 sítios):

- CRAR (n=10, 1.409 sítios): Pacientes sem diabetes que foram submetidos à terapia convencional para tratamento periodontal (raspagem e alisamento radicular)
- CPDT (n=10, 1.386 sítios): Pacientes sem diabetes que foram submetidos à terapia convencional para tratamento periodontal (raspagem e alisamento radicular) e à Terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT).

4.2.3 Cálculo amostral

Foi considerado relevante uma diferença entre os grupos de 1,0 mm na profundidade de sondagem e um desvio padrão estimado de 0,84, baseado nas médias e desvio padrão dos resultados de Macedo et al. (2014).

Utilizando um poder de 80% para detectar essa diferença, com nível de significância de 5%, seriam necessários 13 pacientes por grupo. Portanto, considerando a possibilidade de perda no acompanhamento, seriam recrutados 15 pacientes por grupo (Cunha, 2019).

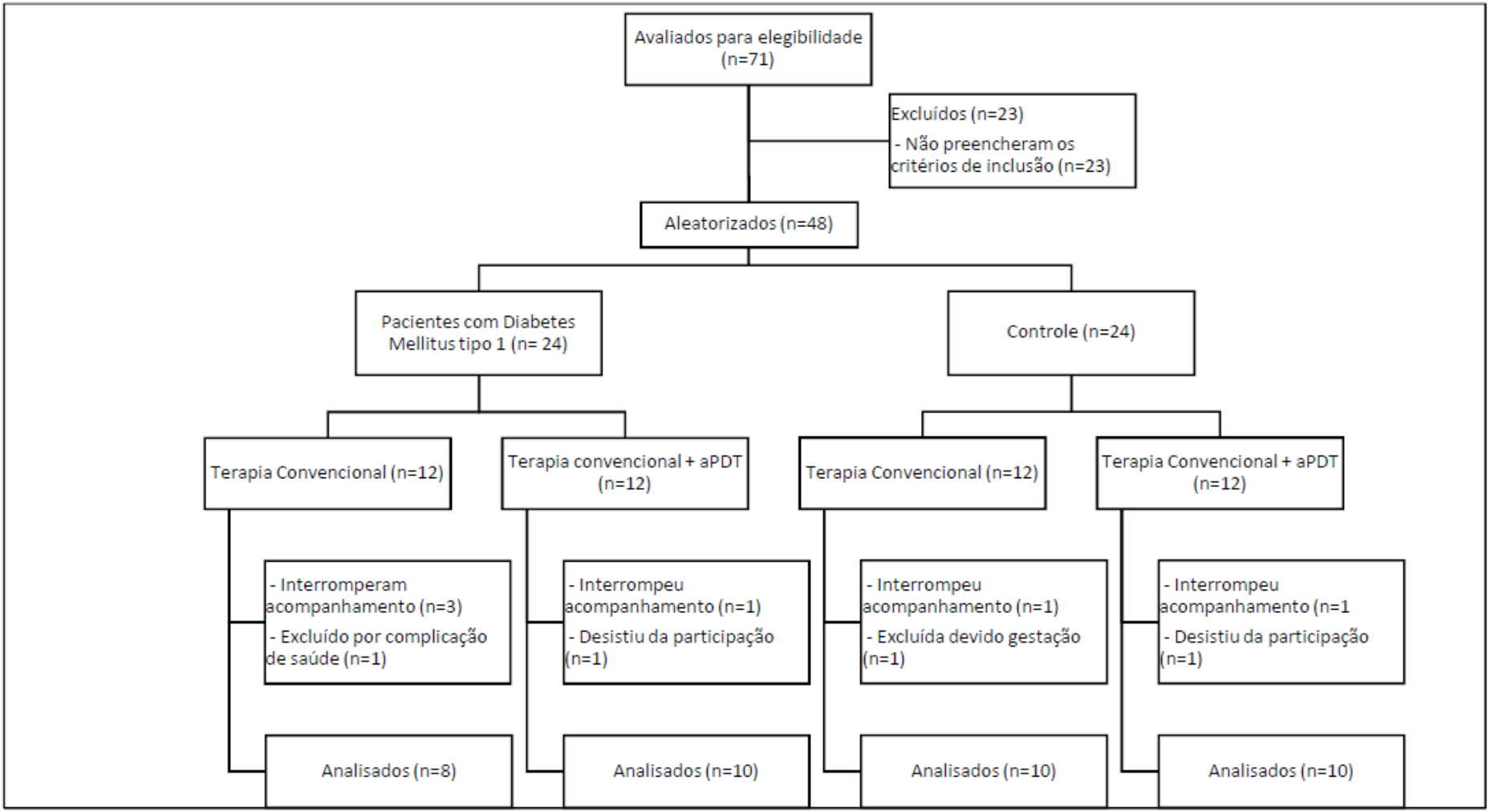

Figura 1. Fluxograma segundo o CONSORT, da distribuição do Estudo Clínico Randomizado (Cunha, 2019).

4.3 Atendimentos

Os atendimentos procederam na seguinte sequência (Cunha, 2019):

- *Triagem:* seleção de pacientes (anamnese, exame clínico e TCLE)
- *Consulta Inicial:* anamnese, exame periodontal e coleta do fluido crevicular gengival.
- *Terapia Periodontal* (3 sessões com intervalos de 1 semana): Tratamento de acordo com o grupo: raspagem e alisamento radicular apenas, ou, raspagem e alisamento radicular procedido por aPDT.
- *Reavaliação 1º mês:* Avaliação periodontal (periograma) e profilaxia.
- *Reavaliação 3º mês:* Avaliação periodontal (periograma), coleta de fluido crevicular gengival e profilaxia.
- *Reavaliação 6 meses:* Avaliação periodontal (periograma), coleta de fluído gengival crevicular e profilaxia.

4.3.1 Avaliação Clínica Periodontal

Foi realizada a avaliação clínica periodontal (periograma) em todos os dentes, com exceção dos terceiros molares e implantes, utilizando os seguintes instrumentais: espelho clínico número 5, sonda milimetrada Carolina do Norte (Hu-Friedy, Chicago, EUA) e sonda tipo Nabers (Quinelato, São Paulo, Brasil) (Cunha, 2019).

Parâmetros avaliados:

- *Profundidade de sondagem (PS):* com uma sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte, posicionada no sentido do longo eixo do dente, foi mensurado a distância da margem gengival até o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal.

- *Índice de Placa (IP):* De acordo com o índice dicotômico de Aynamo & Bay (1975) foi determinado o Índice de Placa considerando a presença (1) ou a

ausência (0) de placa. Essa avaliação foi feita nas faces vestibular, lingual, mesial e distal.

- *Índice de Sangramento à Sondagem (ISS):* segundo a classificação de Ainamo & Bay (1975) foi feita a avaliação considerando a presença (1) ou a ausência (0) de sangramento à sondagem suave, em até 15 segundos após a remoção da sonda do sulco.

- *Nível Clínico de Inserção (NCI):* é representado pela distância da junção cemento-esmalte (JCE) ao fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal. Considerando que a margem gengival se localiza, fisiologicamente, em torno de 2 mm acima do nível da JCE, no sentido oclusal/incisal (SCHROEDER; LISTGARTEN, 1997). Quando não há a presença de recessão ou hiperplasia do tecido gengival é realizado a subtração de 2 mm da profundidade de sondagem, equivalendo à distância da JCE ao fundo de sulco.

4.4 Fluído Crevicular Gengival (FCG)

4.4.1 Preparo das amostras para coleta do fluido crevicular gengival

Para a coleta do FCG foi preparada a solução de armazenamento previamente, utilizando um comprimido inibidor de protease (SIGMAFAST™ Protease Inhibitor Tablets - Sigma-Aldrich Co. LLC) diluído em solução tampão salina de fosfato - PBS (Phosphate Buffered Saline) com agitador magnético (1 minuto), na proporção de 1 tablet/100mL.

Após o preparo da solução, era acrescido 1 mL dessa mistura em um microtubo (Eppendorf Tubes® 3810X).

4.4.2 Coleta do fluido crevicular gengival

A coleta do fluido crevicular gengival (FCG) foi feita utilizando-se cones de papéis absorventes estéreis (Allprime®). Foram escolhidos os 3 sítios com maiores profundidade de sondagem, sendo cada um de um hemi-arco diferente. Para a coleta, primeiramente removeu-se a placa sobre a cervical dos dentes, aplicou-se um jato de ar cuidadosamente e isolou-se (isolamento relativo com roletes de algodão), para que não houvesse interferência da saliva na coleta. O cone de papel foi, então, introduzido no sulco gengival, cuidadosamente, e mantido em posição estática por 30 segundos. Em seguida, este cone foi armazenado em um microtubo com a solução de armazenamento preparada previamente, e este microtubo foi então armazenado em caixas de isopor com gelo, para conservação imediata. Ao final da consulta esta amostra coletada era transferida para armazenamento apropriado em freezer a -80ºC, permanecendo até o momento da quantificação das citocinas em laboratório.

4.5 Terapia Periodontal

4.5.1 Protocolo de atendimentos

Os pacientes foram submetidos a três sessões de terapia, com intervalos semanais. Em todas as consultas também era realizado a instrução de higiene oral, adequando os dispositivos e técnicas de escovação à cada indivíduo (Cunha,2019).

Nos grupos DRAR e CRAR foi realizado apenas a terapia periodontal convencional (raspagem e alisamento radicular) com dispositivo ultrassônico e curetas Gracey (Hu-Friedy, Chicago, EUA) (Cunha,2019).

Nos grupos DPDT e CPDT além da raspagem e alisamento radicular foi feito também a aPDT (Cunha,2019).

Sequência de atendimentos:

- Sessão 1 (dia 0): Ultrassom + RAR com instrumentos manuais em todas as superfícies dentárias, em todos os sítios.

- Sessão 2 (dia 9): Ultrassom + RAR com instrumentos manuais nos dentes que possuíam bolsas ≥ 4 mm. Pacientes dos grupos DPDT e CPDT receberam uma aplicação da aPDT nas bolsas ≥ 4 mm.
- Sessão 3 (dia 14): Ultrassom + RAR com instrumentos manuais nos dentes que possuíam bolsas ≥ 4 mm. Pacientes dos grupos DPDT e CPDT receberam uma aplicação da aPDT nas bolsas ≥ 4 mm.

4.5.2 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT)

A aPDT foi realizada sempre imediatamente após às raspagens e alisamento radicular. Com a região limpa e com isolamento relativo para proteção de mucosas, o corante azul de metileno (Sigma-Aldrich - Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), preparado em solução de água deionizada com a concentração de 10 mg/mL, foi aplicado nas bolsas e/ou sulcos com auxílio de uma seringa de insulina (1mL), um sextante por vez, em quantidade suficiente para um pequeno extravasamento, para que o interior da bolsa/sulco ficasse embebido pelo corante. Aguardado o período de pré-irradiação de 1 minuto (MACEDO et al., 2014), o laser (InGaAIP) vermelho (Therapy XT- DMC – São Carlos/SP – Brasil, adquirido através do auxílio FAPESP 2013/16607-1) era introduzido no sulco/bolsa, por meio de uma ponta de fibra óptica (Figura 1), e então ativada a luz (10 segundos em cada ponto). Realizou-se movimentos ápico-coronais, em 3 pontos na face vestibular (por 10 segundos em cada ponto) acrescido de 10 segundos em movimento de varredura, de mesial para distal. Todo o procedimento foi repetido na face lingual, totalizando 80 segundos por dente. Após a aplicação do laser os dentes foram irrigados com solução fisiológica (soro), para a retirada total do produto (Cunha, 2019).

Figura 2 - Representação da aPDT: Irradiação do laser através de uma ponta de fibra óptica, atuando conjuntamente a um fotossensibilizador.

FONTE: GONSALES, IR.

A calibração e protocolo de aplicação do laser está descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros do aparelho de laser e aplicação da aPDT

CORANTE	Azul de Metileno - 10 mg/mL
TIPO DE LASER	Diodo (InGaAIP)
COMPRIMENTO DE ONDA	660nm (vermelho)
POTÊNCIA DO APARELHO	0,1W
POTÊNCIA EMITIDA PELA PONTA CONDUTORA PARA APDT	0,07W
DENSIDADE DE ENERGIA	2229J/cm² (por ponto)
ENERGIA TOTAL	8J
DENSIDADE DE POTÊNCIA	223W/cm³ (por ponto)
TEMPO DE PRÉ-IRRADIAÇÃO	1 minuto
MODO DE EMISSÃO	Contínuo
MODO DE APLICAÇÃO	Via sulco gengival (fibra óptica)
TIPO DE APLICAÇÃO	Pontual (3 pontos por face do dente) + varredura (movimentos de distal para mesial)
ÁREA DA PONTA CONDUTORA	0,000314 cm²
TEMPO	80s por dente
NÚMERO DE SESSÕES	3 sessões (0, 7 e 14 dias)

4.6 Reavaliações

A reavaliação periodontal foi feita após 1, 3 e 6 meses da terapia ter sido finalizada. Nas consultas de reavaliação, nos tempos de 3 e 6 meses, foi feito um novo periograma (avaliação periodontal), nova coleta do fluído crevicular gengival e profilaxia (Cunha, 2019).

4.7 Processamento e análise das amostras coletadas

A amostra coletada foi primeiramente liofilizada no CIP (Centro Integrado de Pesquisas) da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP. Após esse processo, a amostra permaneceu em freezer a -80ºC por 24 horas, e então, foi realizada a etapa de quantificação das citocinas no laboratório de Farmacologia do departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP.

A quantidade de proteínas totais, em cada amostra, foi mensurada por meio do método de Bradford, para padronização da quantidade de proteína a ser utilizada.

4.7.1 Quantificação dos marcadores biológicos IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α: Imunoensaio multianalito Luminex

Subsequentemente foi feita a análise laboratorial (quantificação dos marcadores biológicos IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α: Imunoensaio multianalito Luminex). A Tecnologia Luminex™ xMAP (MAP – *Multiple Analyte Profiling*) envolve um processo que cora internamente microesferas magnéticas de 6,2 µm (as *Beads*). Utilizando-se uma proporção específica de fluorocromo são criados 100 conjuntos diferentes de microesferas com cores diferentes. Essas microesferas são combinadas em uma única placa de reação e podem dosar até 100 analitos simultaneamente. Cada conjunto de microesfera está acoplado com anticorpo de captura específico, que se liga ao analito (amostra). Após isso, é adicionado um anticorpo de detecção que se liga ao analito. A detecção é feita através de um terceiro marcador fluorescente, estreptavidina-ficoeritrina, que se liga ao anticorpo de detecção, emitindo sinal fluorescente que é então quantificado pelo software Luminex® (MAGPIX®). O

equipamento MAGPIX® utiliza para leitura luzes LED (light emmiting diod) que excitam as *Beads* e câmara CCD (charged coupled device) e assim as identifica e quantifica (GENESE, 2010; MILLIPLEX LUMINEX MEETING, 2013; MILLIPORE, 2013).

Preparação das beads imobilizadas por anticorpos

Cada frasco de beads de anticorpo passou pelo processo de sonificação por 30 segundos e mantido em agitador orbital de placa por 1 minuto. Foram adicionados 60 µL de cada beads de anticorpo, de todos os alvos pesquisados (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8 e TNF-α), em um frasco de mistura e acrescentado 2,58 mL de diluente, a fim de se obter o volume final de 3 mL. Em seguida a solução foi mantida sob agitação para homogeneização.

Preparação dos Controles de Qualidade

Os Controles de Qualidade 1 e 2 foram reconstituídos com 250 µL de água deionizada, invertidos várias vezes e mantidos no agitador orbital. Os frascos foram repousados por 10 minutos e, em seguida, os controles foram transferidos para tubos rotulados.

Preparação do tampão de lavagem (Wash Buffer)

A solução *Wash Buffer 10X* permaneceu em temperatura ambiente e sob agitação para homogeneização dos sais. Em seguida, foram diluídos 60 mL de *Wash Buffer 10X* com 540 mL de água deionizada.

Preparação da Curva Padrão de Citocina Humana

A curva padrão de citocina humana foi reconstituída com 250 µL de água deionizada, resultando em uma concentração de 10.000 pg/mL para todos os analitos. O frasco foi invertido seguidas vezes e mantido em centrífuga por 10 segundos. Após isso, foram repousados por 5 a 10 minutos e então transferidos para um tubo de polipropileno, devidamente rotulado. Essa solução foi utilizada como solução padrão de 10.000 pg/mL.

Cinco tubos foram rotulados com as devidas concentrações (2.000, 400, 80, 16 e 3,2 pg/mL) e então foi adicionado 200 µl de *Assay Buffer* em cada tubo. Após isso, foi realizada as diluições seriadas na proporção 1:5, resultando em valores conhecidos de proteína em cada diluição, variando de 0 a 10.000 pg/mL.

Diluição seriada (Figura 1):

- Acrescentou-se 50 µL da solução padrão de 10.000 pg/mL ao tudo de 2.000 pg/mL;
- Transferiu-se 50 µL do padrão de 2.000 pg/mL para o tubo de 400 pg/ml;
- Transferiu-se 50 µL do padrão de 400 pg/ml ao tudo de 80 pg/ml;
- Transferiu-se 50 µl do padrão de 80 pg/ml para o tubo de 16 pg/mL;
- Transferiu-se 50 µL do padrão de 16 pg/mL para o tubo de 3,2 pg/mL;

O padrão 0 pg/mL (background) foi o *Assay Buffer*.

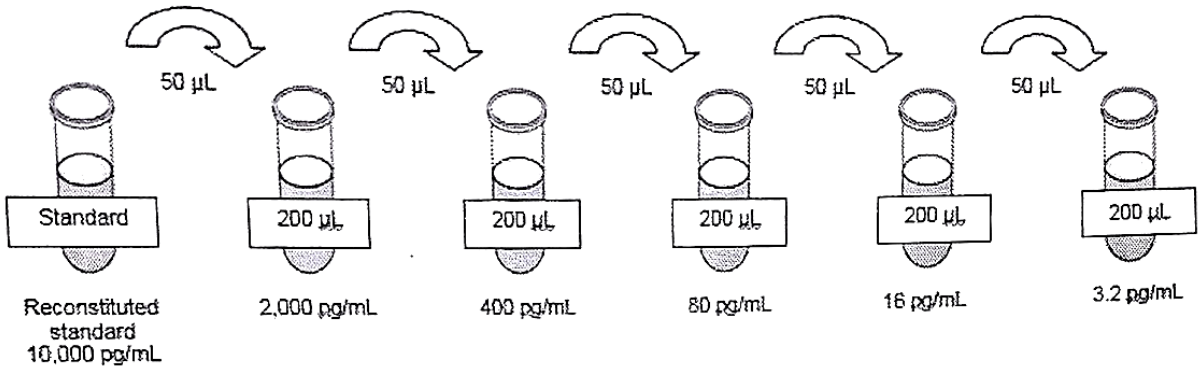

Figura 3. Representação das diluições seriadas para preparo da Curva Padrão

FONTE: Manual Milliplex® MAP Kit

As tabelas de 2 a 4 descrevem os volumes utilizados de solução padrão, água deionizada e volume do *Assay Buffer.*

Tabela 3: Preparo da solução padrão 10X

Concentração Padrão (pg/mL)	Volume de água deionizada adicionada (µL)	Volume do Padrão adicionado
10.000	250	0

Tabela 4: Diluições em série para o preparo da curva padrão

Concentração Padrão (pg/mL)	Volume de Assay Buffer (µL)	Volume do Padrão adicionado
2.000	200	50 µL de 10.000 pg/mL
400	200	50 µL de 2.000 pg/mL
80	200	50 µL de 400 pg/mL
16	200	50 µL de 80 pg/mL
3,2	200	50 µL de 16 pg/mL

Imunoensaio

- Foram adicionados 200 µL de *Wash Buffer* em cada poço da placa, a placa então foi selada e mantida em agitador orbital por 10 minutos, em temperatura ambiente (20 – 25ºC);
- Decantando o *Wash Buffer* removeu-se a quantidade residual de todos os poços, invertendo a placa e batendo-a com força em toalhas absorventes, várias vezes;
- Foi adicionado 25 µL de cada Padrão ou Controle nos poços apropriados. O *Wash Buffer* foi usado para o padrão de 0 pg/mL;
- Nos poços com as amostras foram adicionados 25 µL de *Assay Buffer* e 25 µL de cada amostra;
- As placas com as amostras foram mantidas em agitador orbital;
- Após agitar a solução com as *beads* previamente preparadas, foram adicionados 25 µL desta solução em cada poço;
- As placas foram seladas com papel alumínio e mantidas no agitador orbital por 16 horas, a 4ºC.
- O conteúdo das placas foi removido cuidadosamente e cada placa foi lavada 2 vezes;

- Foram adicionados 25 µL de anticorpo de detecção em cada poço;
- Cada placa foi selada e incubada com agitação durante 1 hora à temperatura ambiente;
- Foram adicionados, em cada poço, 25 µL de Estreptavidina-Ficoeritrina com os anticorpos;
- As placas foram novamente seladas com papel alumínio e mantidas sob agitação durante 30 minutos, em temperatura ambiente (25ºC);
- O conteúdo de cada poço foi removido e as placas lavadas 2 vezes;
- Foram adicionados 150 µL de *Sheath Fluid* (Merck Millipore) em cada poço;
- As *beads* foram ressuspensas em uma mesa agitadora por 5 minutos;
- As placas foram então levadas para leitura no software Luminex 200™.

4.8 Análise Estatística

Todos os resultados obtidos na leitura do Software Luminex (quantificação das citocinas) foram tabulados no programa Excel 2013 (Microsoft® Corporation, Redmont, WA, EUA).

Foram utilizados testes paramétricos e não paramétricos para comparação entre os grupos de acordo com a normalidade de distribuição dos dados. Todos os resultados clínicos foram analisados pelo teste de análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas a dois critérios e complementados pelo teste de Fisher a um nível de significância de 5% ($p<0,05$).

A análise do alcance da meta clínica (FERES et al., 2020) foi realizada pelo teste do Qui-Quadrado. Possíveis correlações entre a profundidade de sondagem do sítio e a quantidade de citocinas inflamatórias foram testadas pela correlação de Pearson ($p<0,05$).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Trinta e oito pacientes participaram do estudo clínico randomizado (Cunha, 2019). No presente estudo foram analisadas as amostras de fluido crevicular gengival (quantificação de citocinas IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α) de 24 pacientes, totalizando 72 sítios (os 3 sítios com maiores profundidade de sondagem e de hemiarcos diferentes). Esta análise consistiu na correlação entre a profundidade de sondagem com a quantidade de citocinas de cada sítio coletado. A distribuição dos grupos está representada na Tabela 5.

Devido ao interrompimento da pesquisa, causado pela pandemia da COVID-19, não foi possível executar o estudo com o número de pacientes do cálculo amostral, o qual seria de 13 pacientes por grupo (n = 52).

O teste estatístico utilizado foi ANOVA de medidas repetidas ($p<0,05$) complementado por Teste de Fisher. Para a profundidade de sondagem, os testes indicaram diferenças nas variáveis “tratamento” e “tempo” com diferenças significativas entre tratamentos RAR (3,43mm) x aPDT (4,02mm) ($p<0,05$) em seus valores totais (Tabela 6).

Na análise das dosagens de citocinas do baseline aos 6 meses não houve diferenças significantes ($p>0,05$). Na análise do TNF-alfa (Tabela 11) houve apenas diferenças na variável “tratamento”, sendo aPDT (1,48) a que teve menor quantidade dessa citocina em relação a RAR (2,65) para os valores totais ($p<0,05$). Para as outras citocinas não houve diferenças significantes.

Na comparação entre os tempos, o baseline (4,65 mm) foi estatisticamente diferente de 3 (3,31 mm) e 6 meses (3,29mm) ($p<0,05$) sendo, esses últimos, iguais ($p>0,05$), também para valores totais (Tabela 6).

Tabela 5. Divisão dos grupos de estudo e número de pacientes (n) em cada grupo.

Condição sistêmica	Tratamento	Pacientes (n)	Sítios (n)
DIABETES	aPDT	6	18
	RAR	5	15
NORMOGLICÊMICOS	aPDT	7	21
	RAR	6	18
TOTAL		**24**	**72**

Nas tabelas de 6 a 11 estão demonstrados os valores de média e desvio padrão para a Profundidade de Sondagem (PS) dos sítios analisados (em mm) e quantidade de citocinas (pg/ml/ng de proteína total).

Tabela 6. Profundidade de sondagem (PS) dos sítios onde houve coleta de citocinas no baseline e após 3 e 6 meses.

Condição	Tratamento	PS (Baseline) [A]		PS (3 meses) [B]		PS (6 meses) [B]	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT [a]	4,44	1,85	3,11	1,02	3,22	1,00
D	RAR [b]	4,13	1,06	3,13	0,52	2,80	0,77
C	RAR [b]	4,28	0,96	2,94	0,54	3,28	0,46
C	aPDT [a]	5,52	1,63	3,95	1,86	3,71	1,87

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes. Letras maiúsculas diferentes = $p<0,05$ para tempo. Letras minúsculas diferentes = $p<0,05$ para tratamento.

Tabela 7. Dosagem de IL-1 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses.

Condição	Tratamento	IL1 (Baseline)		IL1 (3 meses)		IL1 (6 meses)	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT	28,79	25,12	16,38	14,99	19,97	20,86
D	RAR	19,64	20,26	10,38	7,98	8,20	8,01
C	RAR	17,50	25,27	15,03	36,15	23,80	71,35
C	aPDT	33,00	36,79	16,44	18,29	26,29	43,92

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

Tabela 8. Dosagem de IL-4 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses.

Condição	Tratamento	IL4 (Baseline)		IL4 (3 meses)		IL4 (6 meses)	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT	2,41	1,76	4,70	3,54	4,13	2,15
D	RAR	2,80	2,68	3,32	1,27	3,48	1,88
C	RAR	5,36	7,44	5,04	3,55	3,73	1,77
C	aPDT	2,82	1,32	3,92	2,37	3,53	1,56

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

Tabela 9. Dosagem de IL-6 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses.

Condição	Tratamento	IL6 (Baseline)		IL6 (3 meses)		IL6 (6 meses)	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT	0,85	0,82	1,17	1,18	1,46	1,56
D	RAR	4,02	9,00	1,50	1,34	2,85	4,58
C	RAR	2,21	6,68	0,83	0,77	1,71	2,99
C	aPDT	1,22	2,25	1,76	2,01	0,96	1,10

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

Tabela 10. Dosagem de IL-8 (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses.

Condição	Tratamento	IL8 (Baseline)		IL8 (3 meses)		IL8 (6 meses)	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT	59,59	68,53	170,54	202,11	103,94	72,92
D	RAR	61,67	92,73	66,21	47,04	64,72	32,83
C	RAR	117,66	245,92	90,95	89,65	88,26	66,20
C	aPDT	87,30	59,85	98,93	64,02	101,76	83,69

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

Tabela 11. Dosagem de TNF-alfa (pg/ml/ng) no baseline e após 3 e 6 meses.

Condição	Tratamento	TNF (Baseline)		TNF (3 meses)		TNF (6 meses)	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT	1,34	1,15	2,00	1,30	1,13	0,58
D	RAR	4,59	7,76	3,46	4,09	2,72	2,80
C	RAR	1,85	1,83	2,26	1,78	1,53	1,23
C	aPDT	1,06	0,74	1,66	1,26	1,73	3,06

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

Análise da redução ou aumento das citocinas em função do tempo

Foi realizada uma análise da redução ou aumento da profundidade de sondagem e das citocinas subtraindo-se os valores entre os períodos avaliados (3 meses – baseline e 6 meses – baseline). Portanto, valores negativos nas tabelas indicam redução de citocinas ou PS.

Para essa análise foram utilizados os testes ANOVA de medidas repetidas complementado por teste de Fisher ($p<0,05$). Apenas para as medidas de PS o teste indicou diferenças na interação entre as 3 variáveis: “condição” x “tratamento” x “tempo”. Para IL-6 foi apontada diferença apenas entre “tempo” x “tratamento” e, para TNF-alfa houve diferença apenas na variável “tempo”.

Na análise da redução da profundidade de sondagem, comparando a diferença entre o baseline e 6 meses, houve diferença estatisticamente significativa no grupo de pacientes não diabéticos (Tabela 12). O grupo aPDT apresentou maior redução na PS (-1,810) em relação ao RAR (-1,000) ($p<0,05$).

Tabela 12. Redução (valores negativos) ou aumento (valores positivos) na profundidade de sondagem (PS em mm). 3 meses – baseline (3 – 0) e 6 meses – baseline (6 – 0).

Condição	Tratamento	PS 3-0		PS 6-0	
		Média	DP	Média	DP
D	aPDT	-1,333	1,328	-1,222	1,215
D	RAR	-1,000	0,845	-1,333	0,900
C	RAR	-1,333	1,029	**-1,000 B**	0,907
C	aPDT	-1,571	1,660	**-1,810 A**	1,601
TOTAL		-1,333	1,278	-1,361	1,237

Letras maiúsculas diferentes = p<0,05. RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

Para as citocinas IL-1 e IL-4 não houve diferenças estatisticamente significativas (p>0,05) na comparação entre os tempos (Tabela 13).

Tabela 13. Redução (valores negativos) ou aumento (valores positivos) das citocinas IL-1 e IL-4 (pg/ml/ng). 3 meses – baseline (3 – 0) e 6 meses – baseline (6 – 0).

Condição	Tratamento	IL (3-0)		IL-1 (6-0)		IL-4 (3-0)		IL-4 (6-0)	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
D	aPDT	-12,409	22,136	-8,826	26,217	2,295	2,877	1,721	2,176
D	RAR	-9,254	18,529	-11,438	21,585	0,524	2,770	0,677	2,807
C	RAR	-2,468	41,162	6,304	71,776	-0,310	7,366	-1,636	7,652
C	aPDT	-16,558	40,633	-6,710	51,506	1,102	2,523	0,713	1,628
TOTAL		-10,476	32,928	-4,971	47,781	0,925	4,381	0,370	4,358

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes

Para a IL-6 houve diferença apenas entre os grupos de raspagem nos diferentes tempos (Tabela 14). A redução das citocinas foi maior do baseline para 3 meses (-1,900) que do baseline para 6 meses (-0,803), para valores totais (p<0,05).

Tabela 14. Redução (valores negativos) ou aumento (valores positivos) das citocinas IL-6. 3 meses – baseline (3 – 0) e 6 meses – baseline (6 – 0).

Condição	Tratamento	IL6 3-0		IL6 6-0	
		Média	DP	Média	DP
D	aPDT	0,324	1,583	0,611	1,792
D	RAR	-2,522	8,302	-1,164	6,032
C	RAR	-1,384	6,681	-0,503	7,639
C	aPDT	0,536	1,617	-0,264	1,550
TOTAL		-0,634	5,210	-0,292	4,793

RAR – tratamento com raspagem e alisamento radicular. aPDT – tratamento com terapia fotodinâmica antimicrobiana. D – Diabetes. C- Controle sem diabetes.

O resultado mais relevante dessas análises foi em relação à profundidade de sondagem dos sítios onde foi realizada a coleta das citocinas (3 sítios por paciente).

O Tratamento com aPDT mostrou maior redução (4,02mm) em relação ao RAR (3,43mm). Esses valores reduziram do baseline (4,65 mm) para 3 (3,31 mm) e 6 meses (3,29mm) (Tabela 6). O grupo aPDT apresentou maior redução na PS (-1,810) em relação ao RAR (-1,000) ($p<0,05$) no grupo de pacientes sem diabetes no período de 6 meses (Tabela 12).

O grupo de pacientes CPDT (sem diabetes tratados com aPDT) teve redução estatisticamente significante na PS em relação aos outros grupos. Em relação aos tratamentos, a aPDT (1,48) foi mais efetiva que a RAR (2,65) na redução do TNF-alfa para seus valores totais ($p<0,05$).

Correlações entre profundidade de sondagem e citocinas

Foi realizado o teste de correlação de Pearson entre as profundidades de sondagem e a quantidade de citocinas nos respectivos períodos de tempo (Tabela 15).

O grupo de pacientes sem diabetes mostrou menor correlações estatisticamente significativas que o grupo de pacientes diabéticos. O período de 6 meses após o tratamento mostrou o maior número de correlações significantes.

A IL-4 apresentou correlação negativa com a PS, ou seja, quanto menor a PS, maior a quantidade de IL-4 (Tabela 15). Correlações fortes (entre 0,6 e 0,79) foram encontradas aos 6 meses para o grupo de pacientes com diabetes em ambos os tratamentos. A IL-1 apresentou correlações estatisticamente significativa nos grupos tratados com aPDT. Correlações positivas e fortes foram observadas, principalmente no período de 6 meses. Quanto menor a profundidade de sondagem, menor a quantidade de IL-1 nos sítios.

Em relação ao TNF e IL-8, as correlações negativas encontradas destoam do que se esperava, uma vez que a redução na PS deveria estar associada à redução dessas citocinas.

Tabela 15 – Correlação de Pearson (valor de r) entre profundidade de sondagem (PS) e quantidade de citocinas para cada grupo experimental.

	Diabetes - aPDT	**Diabetes - RAR**	**Controle - apdt**	**Controle - RAR**
PS baseline	IL-8 (-0,5045)	Correlação não significativa	Correlação não significativa	Correlação não significativa
PS 3 meses	**IL- 1 (0,6510)** **IL -4 (-0,486)** TNF (-0,4959)	IL-8 (-0,655)	Correlação não significativa	Correlação não significativa
PS 6 meses	**IL -1 (0,761)** **IL-4 (-0,672)** IL-8 (-0,607)	**IL-4 (-0,684)** IL -8 (-0,779) TNF (-0,720)	**IL-1 (0,625)** **IL-4 (-0,490)**	IL-6 (0,583)

Índice de significância = p<0,05

Análise de alcance da meta clínica

Segundo a meta clínica proposta por Feres et al. (2020), após 1 ano do tratamento o paciente deveria apresentar ≤4 sítios com profundidade de sondagem ≥5mm. Este é um método de avaliação efetivo na determinação da remissão e controle da doença periodontal após tratamento ativo, sendo um “endpoint” para ensaios clínicos randomizados. A análise foi feita considerando o total de 38 pacientes do estudo clínico (Cunha, 2019).

Nas tabelas 16 a 18 estão representadas o resultado do alcance da meta clínica. Não houve diferenças entre os grupos.

Tabela 16. Alcance da meta clínica (≤4 sítios com PS≥ 5mm) referentes à condição sistêmica, após 6 meses.

	CONDIÇÃO SISTÊMICA		
Alcançou meta	**Normoglicêmicos**	**Diabetes**	**Qui-quadrado**
SIM	13 (65%)	13 (72,2%)	
NÃO	7 (35%)	5 (27,7%)	p = 0,898
TOTAL	20 (100%)	18 (100%)	

Tabela 17. Alcance da meta clínica (≤4 sítios com PS≥ 5mm) referentes ao tratamento, após 6 meses.

	TRATAMENTO		
Alcançou meta	**aPDT**	**RAR**	**Teste exato de Fisher**
SIM	12 (60%)	16 (88,88%)	
NÃO	8 (40%)	2 (11,11%)	
TOTAL	20 (100%)	18 (100%)	p= 0,067

Tabela 18. Alcance da meta clínica (≤4 sítios com PS≥ 5mm) referentes ao tratamento e condição sistêmica, após 6 meses.

Condição sistêmica	**Tratamento**	**SIM**	**%SIM**	**NÃO**	**%NÃO**	**Chi Quadrado**
Diabetes	aPDT	6	60	4	40	p =0,053
Diabetes	RAR	7	87,5	1	12,5	
Normoglicêmicos	aPDT	4	40	6	60	
Normoglicêmicos	RAR	9	90	1	10	
TOTAL		26		12		

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia da aPDT como adjuvante ao tratamento periodontal, em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e em pacientes sem comprometimento sistêmico, a partir da análise dos mediadores inflamatórios (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8 e TNF-α) presentes no fluido gengival crevicular correlacionado aos resultados de parâmetros clínicos (profundidade de sondagem).

Em relação à redução da profundidade de sondagem após os tratamentos, o grupo aPDT mostrou uma redução mais expressiva que o tratamento convencional (RAR), na comparação do *baseline* para 3 meses e do *baseline* aos 6 meses. Essa redução foi estatisticamente significante nos pacientes sem diabetes na comparação do período de 6 meses. Esse resultado se assemelha aos encontrados por Cláudio et al. (2021), o qual analisou o uso de aplicações múltiplas de aPDT como adjuvante ao tratamento periodontal em pacientes com DM2 e obteve como resultados, aos 3 e 6 meses, redução das bolsas com PS ≥5 mm. No estudo de Al-Momani et al. (2021) foi observado redução significativa na PS para o grupo aPDT nos indivíduos sem diabetes e naqueles com DM2 bem controlados, ambos aos 3 e 6 meses de acompanhamento, enquanto que uma redução significativa foi observada em apenas 3 meses nos indivíduos com DM2 mal controlados. Ramos et al. (2016) encontrou redução expressiva de bolsas moderadas, aos 3 meses, pelo grupo que associou aPDT e RAR em dentes unirradiculares.

A intensidade da inflamação, assim como a destruição dos tecidos periodontais, pode ser avaliada objetivamente pela análise dos componentes no fluido crevicular gengival (FCG), pois vários mediadores inflamatórios e imunológicos foram reconhecidos no FCG (KONOPKA; PIETRZAK; BRZEZINSKA-BLASZCZYK, 2012). O FCG é uma forma de diagnóstico oral devido à sua facilidade de coleta e especificidade do local (BARROS et al., 2016).

Analisando a quantidade de citocinas encontradas neste estudo, na comparação entre os tratamentos, a aPDT associada à RAR foi mais efetiva que apenas a RAR na redução do TNF-α principalmente no grupo de pacientes com diabetes, com maior correlação do que o grupo sem comprometimento sistêmico. Este

resultado difere do encontrado por Ramos et al. (2016), que não observaram redução estatisticamente significativa nas detecções de TNF-α em nenhum grupo. Em contrapartida, nos estudos que encontram redução de TNF-α os autores atribuem o fato à possibilidade de haver a inativação do TNF-α pela ação biomodulatória na utilização da aPDT (BRAHAM et al., 2009, DE OLIVEIRA et al., 2009).

Engebretson et al. (2007) não defendem a existência de uma relação entre a hiperglicemia e os níveis plasmáticos de TNF-α. Embora relatem uma associação transversal entre o TNF-α circulante e a gravidade da doença periodontal em indivíduos com DM2, não está claro se os níveis de TNF-α influenciam a gravidade do diabetes ou se o TNF-α circulante influencia a gravidade da periodontite. Uma correlação positiva entre o TNF-α plasmático e o controle da glicose foi relatada por Katsuki et al. (1998) e Lechleitner et al. (2002). Outros estudos sugerem que a glicose elevada pode estimular a produção de TNF-α por monócitos (MOROHOSHI et al. 1996).

Argiles et al. (1994) relataram que o TNF-α desempenha um papel na patogênese do diabetes tipo 2. Várias linhas de evidência apoiam esse conceito, em animais (HOTAMISLIGIL et al., 1996; KRODER et al., 1996) e em modelos de células humanas in vitro, o TNF-α inibe a ação da insulina (LANG et al., 1992; HOTAMISLIGIL; SPIEGELMAN, 1994; BRUUN et al., 2003). Em estudos clínicos, níveis elevados de TNF-α foram associados à resistência à insulina (MISHIMA et al., 2001) e ao diabetes tipo 2 (FERNANDEZ-REAL et al., 2002). Em estudos longitudinais o TNF-α plasmático mostrou-se elevado com a piora do controle glicêmico (LECHLEITNER et al., 2002). Van Der Poll et al. (1991) observaram que a administração sistêmica de TNF-α causou uma elevação da glicose e da insulina circulante. Portanto, embora alguns associem o TNF-α à resistência à insulina, a causa dos níveis de TNF-α elevados em indivíduos com diabetes não é totalmente compreendida (ENGEBRETSON et al., 2007).

Salvi et al. (1998) observou que monócitos de pessoas com diabetes e periodontite parecem liberar quantidades ainda maiores de TNF-α. Pressupõem-se que os níveis aumentados de TNF-α nesses pacientes sejam influenciados também pela infecção e inflamação periodontal.

Neste estudo a IL-4 apresentou correlação negativa com a PS, ou seja, quanto menor a PS, maior foi a quantidade de IL-4. Este resultado está de acordo com o encontrado por Luchesi et al. (2013) e Giannopoulou et al. (2012), na qual os níveis de citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 aumentaram nos dois grupos (aPDT associada à RAR e somente RAR) 6 meses após a terapia, com níveis mais expressivos aos 3 meses. A IL-4 é uma citocina que tem a capacidade de regular citocinas pró-inflamatórias e também de restringir a osteoclastogênese (HAJISHENGALLIS; KOROSTOFF, 2017), portanto, ela tem ação anti-inflamatória e é encontrada em níveis elevados após o tratamento periodontal, sugerindo os efeitos protetores na periodontite (STADLER et al. 2016).

No estudo de Giannopoulou et al. (2012) apenas bolsas tratadas com aPDT apresentaram níveis aumentados da citocina anti-inflamatória IL-4 e quantidades reduzidas das citocinas pró-inflamatórias IL-1β e IL-6, estatisticamente significantes. Há informações limitadas na literatura sobre o efeito da aPDT na modulação imunológica dos padrões de biomarcadores após o tratamento periodontal (de OLIVEIRA et al., 2009; de OLIVEIRA et al., 2011; LUCHESI et al., 2013) principalmente durante o período de manutenção periodontal (GIANNOPOULOU et al., 2012).

Luchesi et al. (2013) ao avaliar o papel da aPDT como adjuvante à raspagem em lesões de furca grau II demonstraram que, na reavaliação após 3 meses, os mediadores pró-inflamatórios GM-CSF, IL-8, IL-1β e IL- 6 exibiram níveis reduzidos apenas quando a aPDT foi aplicada como tratamento adjuvante. Os níveis de citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 aumentaram nos dois grupos 6 meses após a terapia. Esses achados estão em conformidade aos encontrados por kolbe et al. (2014), apoiando o efeito imunomodulador da aPDT. Estudos indicaram que a aPDT pode levar a uma atividade imunomoduladora, diminuindo a estimulação de linfócitos T (KING et al., 1999) e inativando marcadores pró-inflamatórios importantes como IL-1β e TNF-α (BRAHAM et al., 2009). A capacidade da aPDT em modular a resposta do hospedeiro parece estar relacionada à sua capacidade de influenciar os atributos imunoestimuladores das células apresentadoras de antígeno (LEVY, 1998; SÉGUIER et al., 2010).

A IL-1β, no presente estudo, teve correlação positiva nos grupos tratados com aPDT, principalmente no período de 6 meses, ou seja, quanto menor a profundidade de sondagem, menor a quantidade de IL-1β nos sítios, assim como nos estudos de Luchesi et al. (2013), Giannopoulou et al. (2012) e Khakar et al. (2021).

Salvi et al. (1998), Wolff et al. (2009), Engebretson et al. (2002) e relatam uma correlação positiva com altos níveis de IL-1β no fluido gengival crevicular em pacientes com diabetes. A IL-1β é uma potente citocina pró-inflamatória associada à presença de doença periodontal (ENGEBRETSON et al., 2002), e a redução dessa citocina pode permanecer até 6 meses em sítios periodontais tratados por aPDT (LUCHESI et al. 2013).

No estudo de Khakar et al. (2021) a análise dos marcadores inflamatórios indicou concentrações mais baixas de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-8) e concentrações maiores de citocinas antiinflamatórias (IL-10) nos locais de teste em comparação com os locais de controle em 3 meses. Dentro das limitações do estudo, concluíram que duas sessões de aPDT, adjuvante à RAR, resultaram em redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no FCG e aumento dos níveis de citocinas anti-inflamatórias em pacientes com periodontite crônica. Os autores recomendaram o uso da aPDT pela possibilidade de maior adesão do paciente, segurança e ausência de efeitos colaterais.

Com relação à eficácia da aPDT como coadjuvante no tratamento em pacientes com diabetes mellitus ainda não há evidências bem consolidadas (ABDULJABBAR et al., 2017b), mas em alguns estudos (AKRAM et al., 2016; MACDONALD; DOUGHERTY, 2001; AL-ZAHRANI et al., 2009; RAMOS et al., 2016) a aPDT mostrou benefícios nos parâmetros clínicos periodontais e glicêmicos. Ramos et al. (2016) recomendam o uso da aPDT como adjuvante para pacientes com DM2 como uma alternativa ao uso de antibióticos sistêmicos. Constataram que a aPDT também pode reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias e relataram uma redução na PS em 3 meses pós-tratamento.

Mirza et al. (2019) observaram que a aPDT como adjuvante possibilita redução dos níveis de produtos finais da glicação avançada (do inglês AGEs – Advanced Glycation End-products) no fluido crevicular gengival. No entanto, esses benefícios não foram verificados em outros estudos que também usaram aPDT como terapia

adjuvante no tratamento da periodontite em pacientes com diabetes (OLIVEIRA MACEDO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2016; BARBOSA et al., 2018; AL-ZAHRANI et al., 2011).

Na revisão sistemática de Abduljabbar et al. (2017) os autores ressaltaram que os estudos analisados apresentaram grande heterogeneidade nas configurações e técnicas do laser utilizado, incluindo diferenças no tempo de irradiação, diâmetro da fibra óptica e concentração de fotossensibilizador. O diâmetro da fibra é responsável por influenciar a densidade de potência e saída de energia durante aPDT, portanto, essa variação poderia modificar a quantidade de energia liberada durante o processo, interferindo na eficácia antimicrobiana da terapia fotodinâmica (RADVAR et al., 1996). Além disso, a frequência de aplicação da aPDT também variou entre os estudos, entre 4 aplicações a apenas uma, o que também poderia comprometer a eficácia da terapia nos estudos incluídos (AL-ZAHRANI et al., 2009; MACEDO et al., 2014; CASTRO DOS SANTOS et al., 2016; RAMOS et al., 2016).

Nos estudos que não observaram benefícios adicionais com o uso de aPDT foi realizada apenas uma única sessão (OLIVEIRA MACEDO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2016; BARBOSA et al., 2018; AL-ZAHRANI et al., 2011). Ramos et al. (2016) avaliaram o mesmo perfil de paciente usando quatro aplicações de aPDT (0, 3, 7 e 14 dias após a raspagem e alisamento radicular), e encontraram melhorias em bolsas moderadas de dentes unirradiculares. Esses resultados positivos após múltiplas sessões estão em conformidade com estudos que também realizaram múltiplas sessões e avaliaram pacientes sistemicamente saudáveis (LULIC et al., 2009; THEODORO et al., 2017), fumantes (THEODORO et al., 2018) e pacientes com DM2 descompensados (RAMOS et al., 2016; IVANAGA et al., 2019).

Existem duas hipóteses que poderiam explicar o motivo do benefício adicional em se realizar aplicações múltiplas de aPDT. Uma afirma que o efeito adicional é devido à dependência da dose da terapia, sendo múltipla, maior a dose; outra afirma que esse efeito adicional é devido ao fato de as reaplicações acontecerem após a redução da inflamação (RAMOS et al., 2016). Sabe-se que a aPDT tem efeito dose-dependente e a presença de sangue e alta concentração de proteínas, característica da inflamação, poderia comprometer sua ação (MEISEL; KOCHER, 2005).

No estudo de Moreira et al. (2015) envolvendo pacientes com periodontite agressiva, segundo a antiga Classificação das Doenças e Condições Periodontais (ARMITAGE, 1999), a aplicação múltipla de aPDT como adjuvante mostrou resultados promissores, podendo ser uma complementação eficaz no tratamento de periodontite agressiva. Na análise dos parâmetros clínicos observaram redução da PS e ganho de inserção clínica em bolsas profundas, na avaliação de 3 meses, quando comparado à raspagem somente. Em relação aos parâmetros imunológicos, o grupo teste apresentou IL-1β significativamente menor que o grupo controle (apenas a raspagem) em 14 e 90 dias, na avaliação de bolsas moderadas e profundas. Os autores concluíram que quatro sessões de aPDT podem promover benefícios clínicos, microbiológicos e imunológicos no tratamento de bolsas periodontais profundas em pacientes com periodontite agressiva.

A análise de marcadores inflamatórios no estudo de Pourabbas et al. (2014) indicou que houve melhoras nos níveis de marcadores inflamatórios como TNF-α, IL-1β, MMP-8, e MMP-9 em locais tratados com RAR associada a aPDT, em comparação com apenas a raspagem. No entanto, a diferença foi estatisticamente significante apenas para TNF-α entre os grupos de tratamento.

Giannopoulou et al. (2012) compararam os efeitos da aPDT, laser diodo e RAR em níveis locais de várias citocinas e revelaram que não houve mudanças independentemente da modalidade de tratamento, ao longo de 6 meses.

Em estudos experimentais com animais, Carvalho et al. (2011) demonstraram que animais tratados com aPDT apresentaram diminuição da reabsorção óssea, bem como redução da migração de neutrófilos e menor expressão de TNF-α, em comparação com animais tratados apenas com fotossensibilizador. Este estudo usou uma única aplicação de aPDT como adjuvante à terapia mecânica e esta abordagem não forneceu benefícios clínicos para os locais tratados em termos de redução de PS ou ganho de inserção clínica.

Evidências sobre uma associação entre diabetes tipo 1 e periodontite são imprecisas. Os mecanismos pelos quais o diabetes poderia influenciar a doença periodontal incluem anormalidades vasculares, disfunção de neutrófilos, anormalidades na síntese de colágeno e predisposição genética (OLIVER; TERVONEN, 1994)

No estudo de Salvi et al. (2010) foram avaliados os biomarcadores do fluido gengival e microbiano presentes no biofilme em indivíduos com diabetes tipo 1 comparado aos indivíduos sem diabetes, durante a gengivite experimental (as práticas de higiene foram interrompidas por 3 semanas). Os níveis de IL-1β em pacientes com DM1 foram elevados em comparação com os indivíduos saudáveis, e mostraram diferenças entre os grupos entre 7–21 dias.

No estudo de Popławska-Kita et al. (2014) foram avaliados a higiene oral e o estado periodontal em indivíduos saudáveis e em pacientes com diabetes tipo 1, analisando-se o controle glicêmico, tabagismo e biomarcadores inflamatórios séricos. Os pacientes com diabetes tipo 1 com bom controle metabólico apresentaram menores concentrações de PCR e TNF-α do que os do grupo controle. Em contraste, os níveis de IL-1β não foram alterados em indivíduos com diabetes ou sem diabetes. Os resultados sugerem um papel para o TNF-α na destruição periodontal, especialmente em pacientes mal controlados com diabetes tipo 1. Concluíram que há possibilidade de que o diabetes tipo 1 aumente o risco de doença periodontal, fato relacionado ao nível de controle metabólico.

A falta de evidências sobre a vantagem na utilização da aPDT no tratamento periodontal se deve principalmente ao fato de haver uma disparidade muito grande nos protocolos dos estudos. Ainda não há o estabelecimento de um parâmetro específico de aplicação do laser, assim como o tipo e concentração dos corantes, frequência de aplicações, e especificidades técnicas do aparelho.

Quanto a forma de aplicação do laser, alguns trabalhos relataram a utilização da fibra óptica intra-bolsa (GE et al., 2011; LUI; CORBET; JIN, 2011; GIANELLI et al., 2012; NORO FILHO et al., 2012; ANDRADE et al., 2013; CAMPOS et al., 2013; DILSIZ; CANAKCI; AYDIN, 2013; LUCHESI et al., 2013; BETSY et al., 2014; KOLBE et al., 2014; MULLER CAMPANILE et al., 2015), porém este mecanismo poderia estimular o sangramento, que por sua vez poderia interferir na associação do fotossensibilizador ao laser. Como alternativa a isso, há trabalhos que sugerem o posicionamento paralelo ao longo eixo do dente, ou na embocadura da bolsa (BALATA et al., 2013), ou uma associação da aplicação da fibra óptica intrabolsa e também transmucosa (GIANNELLI et al., 2012).

Em relação à frequência de aplicação do laser, as sessões múltiplas tendem a promover melhores resultados clínicos, tendo impacto maior nos resultados (LULIC et al; 2009; GIANELLI et al., 2012; MOREIRA et al., 2015; CAMPANILE et al., 2015; DAMANTE et al., 2015).

Quanto ao fotossensibilizador utilizado também não há uma padronização, algumas opções utilizadas são: rosa bengala, azul de toluidina O, azul de metileno, acridina, ftalocianinas, porfirinas e produtos naturais (ARENAS et al., 2013). A atuação desses corantes proporciona a capacidade de eliminar microorganismos, pois eles reagem com as moléculas por transferência de elétrons ou hidrogênio, levando a ocorrência de reações tipo I ou tipo II. A reação tipo I é a que ocorre a transferência de cargas para o oxigênio, formando radicais de oxigênio como o superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^-) e radical hidroperoxila ($HO_2^\bullet$). Essa reação acontece com o uso dos corantes fenotiazínicos (azul de metileno, azul de toluidina e cloreto de fenotiazina) (SPÄTH et al., 2014). Na reação tipo II ocorre transferência de energia formando o oxigênio singleto ($^1O_2$) que é altamente citotóxico, podendo oxidar moléculas como proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos. Devido a esses danos aos lipídeos da membrana celular bacteriana, há a liberação de espécies reativas de oxigênio, que são citotóxicas, assim, ocorre a ação antimicrobiana (PERUSSI, 2007).

Além das diferenças relacionadas à técnica de realização da aPDT, houve também várias discrepâncias observadas entre os estudos incluídos (AL-ZAHRANI et al., 2009; OLIVEIRA MACEDO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2016; RAMOS et al., 2016) em termos de níveis basais de HbA1c, gravidade da periodontite e inclusão de pacientes fumantes, o que dificultaria uma análise mais precisa sobre a eficácia da aPDT.

Apesar disso, a utilização da aPDT como terapia adjuvante pode apresentar vantagens pois é uma terapia sem contraindicações, com baixo risco à toxicidade sistêmica e que aparentemente não induz resistência bacteriana (GÓIS et al., 2010).

A meta clínica (também denominado como “endpoint” clínico) é uma ferramenta útil para se usar como parâmetro de avaliação do sucesso do tratamento em estudos clínicos. Neste caso, é avaliado a quantidade (em porcentagem) de pacientes que após o tratamento tiveram como desfecho ≤4 sítios com PS ≥ 5mm (FERES et al.,

2012; BORGES et al., 2017). Assim, é possível dimensionar o impacto do tratamento sobre a doença periodontal.

No presente estudo, a análise do alcance da meta clínica (FERES; et al, 2020) não mostrou diferenças entre os grupos com DM1 (65%) e normoglicêmicos (72,2%), que responderam de forma semelhante em ambos os tratamentos (aPDT- 60 % e RAR 88,88%).

No estudo de Mensi et al. (2020) é proposto um protocolo para tratamento de periodontite grave, envolvendo o uso de antibioticoterapia (Metronidazol e Amoxicilina) associado à raspagem e alisamento radicular em sessão única. O desfecho clínico foi avaliado a partir da porcentagem de indivíduos que atingiram a meta clínica pelo tratamento (FERES et al., 2012; BORGES et al., 2017), ou seja, ≤4 locais com PS ≥5 mm e com redução no número médio de sítios com PS ≥6mm ao longo do tempo. Nesse caso, 30% dos pacientes atingiram o desfecho clínico almejado.

Neste estudo, devido aos critérios de inclusão restritivos, o número pequeno da amostra foi uma limitação. A evidência positiva do impacto do tratamento periodontal no controle glicêmico torna a terapia periodontal uma parte importante no controle glicêmico do paciente com diabetes. Nesse sentido, mecanismos auxiliares ao tratamento periodontal, como a aPDT por exemplo, pode ser uma alternativa complementar eficaz. O fato de ainda não haver evidências que sustentem a superioridade no uso da aPDT pode ser explicado pelas diferenças metodológicas dos estudos publicados. Portanto, sugere-se a realização de estudos adicionais, a fim de se determinar o efeito da aPDT em diferentes parâmetros de aplicação e condições.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Após as análises comparativas entre a profundidade de sondagem e a quantidade de citocinas presentes no fluido crevicular gengival, antes e após as terapias (aos 3 e 6 meses), em pacientes com e sem diabetes mellitus tipo I, podemos concluir que:

- O tratamento com aPDT como adjuvante mostrou maior redução na profundidade de sondagem quando comparado à RAR.
- O grupo de pacientes sem diabetes e tratados com aPDT apresentou maior redução da PS em relação aos outros grupos.
- A aPDT foi mais efetiva que a RAR na redução do TNF-α, porém, nas demais citocinas não houve diferenças significantes.
- Não houve diferença entre os grupos em relação ao alcance da meta clínica. Os pacientes com e sem diabetes responderam de forma semelhante em ambos tratamentos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDULJABBAR, T.; AL-SAHALY, F.; AL-KATHAMI, M.; AFZAL, S.; VOHRA, F. Comparison of periodontal and peri-implant inflammatory parameters among patients with prediabetes, type 2 diabetes mellitus and non-diabetic controls. **Acta Odontol Scand**, v. 75, n. 5, p. 319–324, 2017a.

ABDULJABBAR, Tariq et al. Antimicrobial photodynamic therapy adjuvant to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 17, p. 138-146, 2017b.

ACHARYA, A. B.; THAKUR, S.; MUDDAPUR, M. V.; KULKARNI, R. D. Cytokine ratios in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Metab. Syndr.: Clin. Res. Rev.**, v. 11, n. 4, p. 277–278, 2017.

ADA - American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2014 Jan; 37(Supplement 1): S81-S90.

AINAMO, J.; BAY, I1. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **International dental journal**, v. 25, n. 4, p. 229-235, 1975.

AKRAM, Z. et al. Effect of photodynamic therapy and laser alone as adjunct to scaling and root planing on gingival crevicular fluid inflammatory proteins in periodontal disease: a systematic review. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 16, p. 142-153, 2016.

ALBIGER, B.; DAHLBERG, S.; HENRIQUES-NORMARK, B.; NORMARK, S. Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll-like receptors. **J Intern Med**, v. 261, n. 6, p. 511–528, 2007.

AL-MOMANI, Mohammed Mahmoud. Indocyanine-mediated antimicrobial photodynamic therapy promotes superior clinical effects in stage III and grade C chronic periodontitis among controlled and uncontrolled diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, p. 102379, 2021.

ALVARENGA, L. H.; GOMES, A. C.; CARRIBEIRO, P.; GODOY-MIRANDA, B.; NOSCHESE, G.; SIMÕES RIBEIRO, M.; KATO, I. T.; BUSSADORI, S. K.; PAVANI, C.; GERALDO, Y.; SILVA, D.; HORLIANA, A.; WAINWRIGHT, M.; PRATES, R. A. Parameters for antimicrobial photodynamic therapy on periodontal pocket-Randomized clinical trial. **Photodiagnosis Photodyn. Ther**, v. 27, p. 132–136, 2019.

AL-ZAHRANI, Mohammad S. et al. Short-term effects of photodynamic therapy on periodontal status and glycemic control of patients with diabetes. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 10, p. 1568-1573, 2009.

AL-ZAHRANI, Mohammad S.; AUSTAH, Obadah N. Photodynamic therapy as an adjunctive to scaling and root planing in treatment of chronic periodontitis in smokers. **Saudi Med J**, v. 32, n. 11, p. 1183-1188, 2011.

ANDRADE, Patrícia F. et al. Adjunct effect of the antimicrobial photodynamic therapy to an association of non-surgical and surgical periodontal treatment in modulation of gene expression: a human study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 126, p. 119-125, 2013.

ARENAS, Y.; MONRO, S.; SHI, G.; MANDEL, A.; MCFARLAND, S. & LILGE, L. Photodynamic inactivation of Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus with Ru(II)-based type I/type II photosensitizers. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 10, n. 4, p. 615–625, 2013.

ARGILES, J. M.; LOPEZ-SORIANO, J.; LOPEZ-SORIANO, F. J. Cytokines and diabetes: The final step?. **Hormone and metabolic research**, v. 26, n. 10, p. 447-449, 1994.

ARMITAGE, Gary C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann Periodontol**, v. 4, n. 1, p. 1-6, 1999.

ARRUDA, Guilherme Oliveira de; SCHMIDT, Débora Berger; MARCON, Sonia Silva. Internações por diabetes mellitus e a Estratégia Saúde da Família, Paraná, Brasil, 2000 a 2012. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 543-552, 2018.

ATIEH, M. A. Photodynamic therapy as an adjunctive treatment for chronic periodontitis: a meta-analysis**. Lasers in Medical Science**, v. 25 n. 4, p. 605–613, 2010.

BADERSTEN, Anita; NILVEUS, Rolf; EGELBERG, Jan. Effect of nonsurgical periodontal therapy: II. Severely advanced periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 11, n. 1, p. 63-76, 1984.

BAGGIOLINI, M.; DEWALD, B.; MOSER, B. Human chemokines: an update. **Annu Rev Immunol**, v. 15, n. 675–705, 1997.

BALATA, Maybel Lages et al. Photodynamic therapy associated with full-mouth ultrasonic debridement in the treatment of severe chronic periodontitis: a randomized-controlled clinical trial. **Journal of Applied Oral Science**, v. 21, p. 208-214, 2013.

BARBOSA, Flávia Isabela et al. Effect of photodynamic therapy as an adjuvant to non-surgical periodontal therapy: Periodontal and metabolic evaluation in patients with type 2 diabetes mellitus. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 22, p. 245-250, 2018.

BARROS, Silvana P. et al. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 70, n. 1, p. 53-64, 2016.

BARTOLD, P. Mark; VAN DYKE, Thomas E. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. **Periodontology 2000**, v. 62, n. 1, p. 203-217, 2013.

BEAGLEY, J.; GUARIGUATA, L.; WEIL, C.; MOTALA, A. A. Global estimates of undiagnosed diabetes in adults. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 103, n. (2), p. 150–160, 2014.

BECERIK, S.; ÖZTÜRK, V. Ö.; ATMACA, H.; ATILLA, G.; EMINGIL, G. Gingival crevicular fluid and plasma acute-phase cytokine levels in different periodontal diseases. **J periodontol**, v. 83, n. 10, p. 1304–1313, 2012.

BETSY, J.; PRASANTH, CS.; BAIJU, KV.; PRASANTHILA, J.; SUBHASH, N. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the management of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, n. 6, p. 573–581, 2014

BORGES, Ivan et al. Different antibiotic protocols in the treatment of severe chronic periodontitis: A 1-year randomized trial. **J clin periodontol**, v. 44, n. 8, p. 822-832, 2017.

BOSTANCI, V.; TOKER, H.; SENEL, S.; POYRAZ, O.; AKPINAR, A.; GÖRGÜN, E. P.; BAKAR, O. Evaluation of IL-1β, IL-1ra, and IL-10 levels and outcome of periodontal therapy in chronic periodontitis with familial Mediterranean fever. **Clin Oral Invest**, v. 21, n. 1, p. 469–475, 2017.

BOSTRÖM, E. A.; KINDSTEDT, E.; SULNIUTE, R.; PALMQVIST, P.; MAJSTER, M.; HOLM, C. K.; ZWICKER, S.; CLARK, R., ÖNELL, S.; JOHANSSON, I.; LERNER, U. H.; LUNDBERG, P. Increased Eotaxin and MCP-1 Levels in Serum from Individuals with Periodontitis and in Human Gingival Fibroblasts Exposed to Pro-Inflammatory Cytokines. **PloS one**, v. 10, n. 8, e0134608, 2015.

BRAHAM, Pam et al. Antimicrobial photodynamic therapy may promote periodontal healing through multiple mechanisms. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 11, p. 1790-1798, 2009.

Brasileiro Filho G. Bogliolo-Patologia. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan,2000.6 ed.

BRUUN, J. M.; VERDICH, C.; TOUBRO, S.; ASTRUP, A. & RICHELSEN, B. Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha effect of weight loss in obese men. **European Journal of Endocrinology** v. 148, n. 5, p. 535–542, 2003.

CAFFESSE, Raul G.; SWEENEY, Patrick L.; SMITH, B. A. Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. **Journal of clinical periodontology**, v. 13, n. 3, p. 205-210, 1986.

CAMPANILE, Véronique S. Müller et al. Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. **Lasers in medical science**, v. 30, n. 1, p. 27-34, 2015.

CAMPOS, Gisele N. et al. The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. **Lasers in medical science**, v. 28, n. 1, p. 317-324, 2013.

CARVALHO, Alexandre S. et al. Photodynamic therapy reduces bone resorption and decreases inflammatory response in an experimental rat periodontal disease model. **Photomedicine and laser surgery**, v. 29, n. 11, p. 735-740, 2011.

CARVALHO, M. H. C. DE; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 50, n. 2, p. 304–312, 2006.

CATON, J. G.; ARMITAGE, G.; BERGLUNDH, T.; CHAPPLE, I.; JEPSEN, S.; KORNMAN, K. S.; MEALEY, B. L.; PAPAPANOU, P. N.; SANZ, M.; TONETTI, M. S. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. **J Clin Periodontol,** Jun; v. 45, n. 20, p. 1s-8s, 2018.

CHAMBRONE, Leandro et al. Root coverage procedures for treating localised and multiple recession-type defects. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 10, 2018.

CHAVES, E. S., JEFFCOAT, M. K.; RYERSON, C. C.; SNYDER, B. Persistent bacterial colonization of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. **J Clin Periodontol**, v. 27, n. 12, p. 897–903, 2000.

CHOI, Youn-Hee et al. Association between periodontitis and impaired fasting glucose and diabetes. **Diabetes Care**, v. 34, n. 2, p. 381-386, 2011.

CLÁUDIO, Marina Módolo et al. Effects of multiple sessions of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in the treatment of periodontitis in patients with uncompensated type 2 diabetes: A randomized controlled clinical study. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 35, p. 102451, 2021.

COSTA, F. O.; CORTELLI, S. C.; SILVA, T. A.; COSTA, A. A.; LIMA, R. P. E.; CORTELLI, J. R.; COTA, L. O. M. Cytokine levels in crevicular fluid associated with compliance during periodontal maintenance therapy. **Clin. Oral Investig**, v. 23, n. 9, p. 3517–3526, 2019.

COSTA, F. O.; LAGES, E. J. P.; COTA, L. O. M.; LORENTZ, T. C. M.; SOARES, R. V.; CORTELLI, J. R. Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. **J Periodontal Res**, v. 49, n. 1, p. 121–128, 2013.

COSTA, P. P.; TREVISAN, G. L.; MACEDO, G. O.; PALIOTO, D. B.; SOUZA, S. L.; GRISI, M. F.; NOVAES JUNIOR, A. B.; TABA JUNIOR, M. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. **J Periodontol**, v. 81, n. 3, p. 384–391, 2010.

CUNHA, Paula de Oliveira. Efeito adjuvante da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento periodontal, status salivar, controle glicêmico e qualidade de vida relacionada a saúde oral de pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DA CRUZ ANDRADE, P. V.; EUZEBIO ALVES, V. T.; DE CARVALHO, V. F.; DE FRANCO RODRIGUES, M.; PANNUTI, C. M.; HOLZHAUSEN, M.; DE MICHELI, G.; CONDE, M. C. Photodynamic therapy decrease immune-inflammatory mediators levels during periodontal maintenance. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 1, p. 9-17, 2017.

DAĞ, A.; FIRAT, E. T.; ARIKAN, S.; KADIROĞLU, A. K.; KAPLAN, A. The effect of periodontal therapy on serum TNF-alpha and HbA1c levels in type 2 diabetic patients. **Aust Dent J**, v. 54, n. 1, 17–22, 2009.

DAMANTE, CA. Desenvolvimento e testes in vitro de um novo corante para terapia fotodinâmica em Periodontia. Tese (Livre Docência). Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo. Bauru, 2015.

DE OLIVEIRA MACEDO, Guilherme et al. Additional effects of aPDT on nonsurgical periodontal treatment with doxycycline in type II diabetes: a randomized, controlled clinical trial. **Lasers in medical science**, v. 29, n. 3, p. 881-886, 2014.

DE OLIVEIRA, R. R.; SCHWARTZ-FILHO, H. O.; NOVAES, A. B.; TABA, M. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. **J. Clin. Periodontol**, v. 78, n. 6, p. 965–973. 2007.

DE OLIVEIRA, Rafael Ramos et al. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: Cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 1, p. 98-105, 2009.

DE OLIVEIRA, Rafael Ramos et al. The effect of a single episode of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of experimental periodontitis. Microbiological profile and cytokine pattern in the dog mandible. **Lasers in medical science**, v. 26, n. 3, p. 359-367, 2011.

DE OLIVEIRA, Rafael Ramos et al. The effect of a single episode of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of experimental periodontitis. Microbiological profile and cytokine pattern in the dog mandible. **Lasers in medical science**, v. 26, n. 3, p. 359-367, 2011.

DILSIZ, A.; CANAKCI, V. & AYDIN, T. Clinical effects of potassium-titanyl-phosphate laser and photodynamic therapy on outcomes of treatment of chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Periodontology**, v. 84, n. 3, p. 278–286, 2013

DINARELLO C. A. Historical insights into cytokines. **Eur**, v. 37, n.1, p. 34s–45s, 2007.

DINARELLO, C. A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. **Blood**, v. 87, n. 6, p. 2095–2147, 1996.

DOBSON, J.; WILSON, M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. Archives of Oral Biology, 37(11), 883-887. 1992

DOHERTY, D. E.; DOWNEY, G. P.; WORTHEN, G. S.; HASLETT, C.; HENSON, P. M. Monocyte retention and migration in pulmonary inflammation. Requirement for neutrophils. **Lab Invest**, v. 59, n. 2, p. 200-213, 1988.

DONG, R.; ZHENG, S. Interleukin-8: A critical chemokine in biliary atresia. **JGH**, v. 30, n. 6, p. 970–976, 2015.

DOS SANTOS, Nídia Cristina Castro et al. Local adjunct effect of antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of chronic periodontitis in type 2 diabetics: split-mouth double-blind randomized controlled clinical trial. **Lasers in medical science**, v. 31, n. 8, p. 1633-1640, 2016.

DUARTE, P. M.; BASTOS, M. F.; FERMIANO, D.; RABELO, C. C.; PEREZ-CHAPARRO, P. J.; FIGUEIREDO, L. C.; FAVERI, M.; FERES, M. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. **J Periodontal Res**, v. 50, n. 18, p. 27 16, 2015.

DUARTE, P. M.; DA ROCHA, M.; SAMPAIO, E.; MESTNIK, M. J.; FERES, M.; FIGUEIREDO, L. C.; BASTOS, M. F.; FAVERI, M. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. **J periodontol**, v. 81, n. 7, p. 1056–1063, 2010.

EBERSOLE, J. L., MACHEN, R. L., STEFFEN, M. J., & WILLMANN, D. E. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. **Clin. Exp. Immunol**, v. 107, n. 2, p. 347–352, 1997.

EISENBARTH, G. S. Type 1 diabetes: molecular, cellular and clinical immunology. **Adv. Exp. Med. Biol**, v. 552, p. 306–310, 2004.

ENGEBRETSON, S. P.; GRBIC, J. T.; SINGER, R. & LAMSTER, I. B. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, n. 1, p. 48–53, 2002

ENGEBRETSON, Steven et al. Plasma levels of tumour necrosis factor-α in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. **Journal of clinical periodontology**, v. 34, n. 1, p. 18-24, 2007.

ERTUGRUL, A. S.; SAHIN, H.; DIKILITAS, A.; ALPASLAN, N.; BOZOGLAN, A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1ß and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. J **Periodontal Res**, v. 48, n. 1, p. 44-51, 2012.

EVANGELISTA, Erika Elisabeth et al. Antimicrobial photodynamic therapy combined with periodontal treatment for metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2015.

FEDERATION, Internatonal Diabetes. IDF diabetes atlas 8th edition. **International Diabetes Federation**, p. 905-911, 2017.

FERES, Magda et al. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. **Journal of clinical periodontology**, v. 39, n. 12, p. 1149-1158, 2012.

FERES, Magda et al. Proposal of a Clinical Endpoint for Periodontal Trials: The Treat-to-Target Approach. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 22, n. 2, p. 41-53, 2020.

FERNANDEZ-REAL, J. M.; LAINEZ, B., VENDRELL, J.; RIGLA, M.; CASTRO, A.; PENARROJA, G., BROCH, M.; PEREZ, A.; RICHART, C.; ENGEL, P. & RICART, W. Shedding of TNF-alpha receptors, blood pressure, and insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism** v. 282, n. 4, p. 952–959, 2002.

FIETTA, P.; COSTA, E.; DELSANTE, G. Interleukins (ILs), a fascinating family of cytokines. Part II: ILs from IL-20 to IL-38. **Riv. Biol.,** v. 108, n. 1-2, p. 19–40, 2015.

FLOR, Luisa Sorio; CAMPOS, Monica Rodrigues. Prevalência de diabetes mellitus e fatores associados na população adulta brasileira: evidências de um inquérito de base populacional. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, p. 16-29, 2017.

FRANCO, T. P. M.; DOS SANTOS, A. P. P.; CANABARRO, A. The effects of repeated applications of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of residual periodontal pockets: a systematic review. **Lasers Med Sci**, v. 34, n. 1, p. 855–863, 2019.

GARLET, G. P.; MARTINS, W. JR, FERREIRA, B. R.; MILANEZI, C. M.; SILVA, J. S. Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human periodontal disease. **J. Periodontal Res**, v. 38, n. 2, p. 210–217, 2003.

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 planing in the treatment of chronic periodontitis. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 29, n. 1, p. 33–37, 2011.

GEMMELL, E.; MARSHALL, R. I.; SEYMOUR, G. J. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. **Periodontol. 2000**, v. 14, n. 1, p. 112–143, 1997.

GIANNELLI, M.; BANI, D.; VITI, C.; TANI, A.; LORENZINI, L.; ZECCHI-ORLANDINI, S. & FORMIGLI, L. Comparative evaluation of the effects of different photoablative laser irradiation protocols on the gingiva of periodontopathic patients. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 30, n. 4, p. 222–230, 2012.

GIANNELLI, Marco et al. Combined photoablative and photodynamic diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment. A randomized split-mouth clinical trial. **Journal of clinical periodontology**, v. 39, n. 10, p. 962-970, 2012.

GIANNOPOULOU, C.; CAPPUYNS, I.; CANCELA, J.; CIONCA, N. & MOMBELLI, A. Effect of photodynamic therapy, diode laser, and deep scaling on cytokine and acute-phase protein levels in gingival crevicular fluid of residual periodontal pockets. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 8, p.1018–1027, 2012.

GÓIS, M. M.; KURACHI, C.; SANTANA, E. J. B.; MIMA, E. G. O.; SPOLIDÓRIO, D. M. P.; PELINO, J. E. P. & SALVADOR BAGNATO, V. Susceptibility of Staphylococcus aureus to porphyrin-mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy: an in vitro study. **Lasers in Medical Science**, v. 25, n.3, p. 391–395, 2009.

GÓRSKA, R.; GREGOREK, H.; KOWALSKI, J.; LASKUS-PERENDYK, A.; SYCZEWSKA, M.; MADALIŃSKI, K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v.30, n. 12, p. 1046–1052, 2003.

GUYTON, Arthur C. et al. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan,1997. 9 ed.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbiology and immunology of periodontal disease. **Periodontol 2000**, v. 5, n. 78, p. 111, 1994.

HAJISHENGALLIS, G. & KOROSTOFF, J. M. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. **Periodontology 2000**, v. 75, n. 1, p. 116–151, 2017

HAJISHENGALLIS, G.; DARVEAU, R. P.; CURTIS, M. A. The keystone-pathogen hypothesis. **Nat. Rev. Microbiol,** v. 10, n. 10, p. 717–725, 2012.

HOTAMISLIGIL, G. S. & SPIEGELMAN, B. M. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. **Diabetes** v. 43, p. 1271–1278, 1994.

HOTAMISLIGIL, Gökhan S. et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-α-and obesity-induced insulin resistance. **Science**, v. 271, n. 5249, p. 665-670, 1996.

HUNT, David WC; LEVY, Julia G. Immunomodulatory aspects of photodynamic therapy. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 7, n. 1, p. 57-64, 1998.

IACOPINO, A. M. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. **Ann Periodontol**, v. 6, n. 1, p.125-37. 2001.

IDF. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Diabetes Atlas**, 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2020.

IKEZAWA, I.; TAI, H.; SHIMADA, Y.; KOMATSU, Y.; GALICIA, J. C.; YOSHIE, H. Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 32, n. 10, p. 1047–1054, 2005.

ISER, Betine Pinto Moehlecke et al. Prevalência de diabetes autorreferido no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, p. 305-314, 2015.

IVANAGA, Camila Ayumi et al. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin and LED, as an enhancement to scaling and root planing in the treatment of residual pockets in diabetic patients: A randomized and controlled split-mouth clinical trial. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 27, p. 388-395, 2019.

JAEDICKE, K. M.; PRESHAW, P. M.; TAYLOR, J. J. Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v. 70, n. 1, p. 164–183., 2016.

JAHROMI, M. M.; EISENBARTH, G. S. Cellular and molecular pathogenesis of type 1A diabetes. **Cell. Mol. Life Sci**, v. 64, n. 7-8, p. 865–872, 2007.

JEPSEN, Søren et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **J Clin Periodontol**, v. 45, p. S219-S229, 2018.

KATSUKI, Akira et al. Serum levels of tumor necrosis factor-α are increased in obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 83, n. 3, p. 859-862, 1998.

KINANE, Denis F.; STATHOPOULOU, Panagiota G.; PAPAPANOU, Panos N. Periodontal diseases. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2017.

KING, D. E. et al. Photodynamic alteration of the surface receptor expression pattern of murine splenic dendritic cells. **Scandinavian journal of immunology**, v. 49, n. 2, p. 184-192, 1999.

KOLBE, Maria F. et al. Photodynamic therapy during supportive periodontal care: clinical, microbiologic, immunoinflammatory, and patient-centered performance in a split-mouth randomized clinical trial. **Journal of periodontology**, v. 85, n. 8, p. e277-e286, 2014.

KONOPKA, Ł.; PIETRZAK, A.; BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK, E. Effect of scaling and root planing on interleukin-1β, interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. **Journal of periodontal research**, v. 47, n. 6, p. 681-688, 2012.

KORNMAN, Kenneth S. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. **Journal of periodontology**, v. 79, p. 1560-1568, 2008.

KOVARIK, P.; EBNER, F.; SEDLYAROV, V. Posttranscriptional regulation of cytokine expression. **Cytokine**, v. 89, p. 21–26, 2017.

KRODER, Gerhild et al. Tumor necrosis factor-alpha-and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. **The Journal of clinical investigation**, v. 97, n. 6, p. 1471-1477, 1996.

LALLA, E.; LAMSTER, I. B.; STERN, D. M.; SCHMIDT, A. M. Receptor for Advanced Glycation End Products, Inflammation, and Accelerated Periodontal Disease in Diabetes: Mechanisms and Insights Into Therapeutic Modalities**. Annals of Periodontol**, v. 6, n. 1, p. 113–118, 2001.

LAMSTER, I. B.; LALLA, E. Periodontal disease and diabetes mellitus: discussion, conclusions, and recommendations. **Ann Periodontol**, v. 6, n. 1, p. 146-149, 2001.

LANG, C. H.; DOBRESCU, C. & BAGBY, G. J. Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. **Endocrinology** v.130, p. 43–52, 1992.

LAPPIN, David F. et al. Markers of bone destruction and formation and periodontitis in type 1 diabetes mellitus. **Journal of clinical periodontology**, v. 36, n. 8, p. 634-641, 2009.

LECHLEITNER, M. et al. Tumour necrosis factor-alpha plasma levels in elderly patients with Type 2 diabetes mellitus—observations over 2 years. **Diabetic medicine**, v. 19, n. 11, p. 949-953, 2002.

LIU, R.; BAL, H. S.; DESTA, T.; KROTHAPALLI, N.; ALYASSI, M.; LUAN, Q.; GRAVES, D. T. Diabetes Enhances Periodontal Bone Loss through Enhanced Resorption and Diminished Bone Formation. **J. Dent. Res**, v. 85, n. 6, p. 510–514, 2006.

LOE, H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 16: n. 1, p. 329–334, 1993.

LÖE, H. Periodontal diseases: a brief historical perspective. **Periodontology 2000**, v. 2, n. 1, p. 7-12, 1993.

LOESCHE, W. J.; SYED, S. A.; MORRISON, E. C.; KERRY, G. A.; HIGGINS, T.; STOLL, J. Metronidazole in periodontitis. I. Clinical and bacteriological results after 15 to 30 weeks. **J Periodontol**, v. 55, n. 6, p. 325–335, 1984.

LONGO, P. L.; ARTESE, H. P.; RABELO, M. S.; KAWAMOTO, D.; FOZ, A. M.; ROMITO, G. A.; DIB, S. A.; MAYER, M. P. Serum levels of inflammatory markers in type 2 diabetes patients with chronic periodontitis. **J APPL ORAL SCI**, v. 22, n. 2, p. 103–108, 2014.

LOOS, Bruno G. et al. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. **J periodontol**, v. 71, n. 10, p. 1528-1534, 2000.

LU, H. K., CHEN, Y. L., CHANG, H. C., LI, C. L., & KUO, M. Y. Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. **J Periodontal Res**, v. 41 n. 4, p. 354–360, 2006.

LUCHESI, Vanessa H. et al. Photodynamic therapy in the treatment of class II furcation: a randomized controlled clinical trial. **J Clin Periodontol**, v. 40, n. 8, p. 781-788, 2013.

LUI, J.; CORBET, E. F.; JIN, L. Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. **Journal of periodontal research**, v. 46, n. 1, p. 89-96, 2011.

LULIC, Martina et al. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. **Journal of clinical periodontology**, v. 36, n. 8, p. 661-666, 2009.

MACDONALD, Ian J.; DOUGHERTY, Thomas J. Basic principles of photodynamic therapy. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 5, n. 02, p. 105-129, 2001.

MALIK, Z.; HANANIA, J.; NITZAN, Y. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins--an alternative approach to antimicrobial drugs. **J. Photochem. Photobiol. B, Biol**, v.5, n. 3-4, p. 281–293, 1990.

MANRESA, C.; SANZ-MIRALLES, E. C.; TWIGG, J.; BRAVO, M. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis. **Cochrane Database Syst. Rev,** v. 1, n. 1, CD009376, 2018.

MARCACCINI, Andrea M. et al. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. **J Periodontol**, v. 80, n. 4, p. 594-602, 2009.

MARTINETTO, P.; GARIGLIO, M.; LOMBARD, G. F.; FISCELLA, B.; BOGGIO, F. Bactericidal effects induced by laser irradiation and haematoporphyrin against gram-positive and gram-negative microorganisms. **Drugs Exp Clin Res**, v. 12, n. 4, p. 335–342, 1986.

MEALEY, B. L. Periodontal disease and diabetes. A two-way street. **J. Am. Dent. Assoc**, v. 137, p. 26s–31s, 2006.

MEALEY, B. L; OATES, T. W. Diabetes mellitus and periodontal diseases. **J Periodontol**, v. 77, n. 8, p. 1289-303, 2006.

MEISEL, Peter; KOCHER, Thomas. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. **J. Photochem. Photobiol**. **B**, v. 79, n. 2, p. 159-170, 2005.

MELNICOFF, M. J.; HORAN, P. K.; MORAHAN, P. S. Kinetics of changes in peritoneal cell populations following acute inflammation. **Cell Immunol**, v. 118, n. 1, p.178-191, 1989.

MENSI, Magda et al. One-Stage Full Mouth Instrumentation (OSFMI): Clinical Outcomes of an Innovative Protocol for the Treatment of Severe Periodontitis. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 22, n. 3, p. 129-136, 2020.

MERCADO, Faustino B.; MARSHALL, R. I.; BARTOLD, P. M. Inter-relationships between rheumatoid arthritis and periodontal disease: A review. **Journal of clinical periodontology**, v. 30, n. 9, p. 761-772, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus. Brasília: Ministério da Saúde**; 2013.

MIRZA, Sana et al. Efficacy of adjunctive photodynamic therapy on the clinical periodontal, HbA1c and advanced glycation end product levels among mild to moderate chronic periodontal disease patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 28, p. 177-182, 2019.

MISHIMA, Y.; KUYAMA, A.; TADA, A.; TAKAHASHI, K.; ISHIOKA, T. & KIBATA, M. Relationship between serum tumor necrosis factor alpha and insulin resistance in obese men with type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice** v. 52, n. 2, p. 119–123, 2001.

MIZUTANI, K.; AOKI, A.; COLUZZI, D.; YUKNA, R.; WANG, C. Y.; PAVLIC, V.; IZUMI, Y. Lasers in minimally invasive periodontal and peri-implant therapy. **Periodontol 2000**, 71(1), 185–212, 2016.

MONASTERO, R. N.; PENTYALA, S. Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels. **Int J Inflamm**, p. 1–11, 2017.

MONGARDINI, Claudio; DI TANNA, Gian Luca; PILLONI, Andrea. Light-activated disinfection using a light-emitting diode lamp in the red spectrum: clinical and microbiological short-term findings on periodontitis patients in maintenance. A randomized controlled split-mouth clinical trial. **Lasers in medical science**, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2014.

MOREIRA, André L. et al. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: A split-mouth randomized controlled trial. **Journal of periodontology**, v. 86, n. 3, p. 376-386, 2015.

MOROHOSHI, Masaharu et al. Glucose-dependent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro. **Diabetes**, v. 45, n. 7, p. 954-959, 1996.

MOURA, M. F.; NAVARRO, T. P.; SILVA, T. A.; COTA, L.; OLIVEIRA, A. M. S. D.; COSTA, F. O. Periodontitis and endothelial dysfunction: periodontal clinical parameters and levels of salivary markers interleukin-1β, tumor necrosis factor-α, matrix metalloproteinase2, tissue inhibitor of metalloproteinases-2, and nitric oxide. **J Periodontol**, v. 88, n. 8, p.778–787, 2017.

MUZY, Jéssica et al. Prevalência de diabetes mellitus e suas complicações e caracterização das lacunas na atenção à saúde a partir da triangulação de pesquisas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, 2021.

NETEA, M. G.; SIMON, A.; VAN DE VEERDONK, F.; KULLBERG, B. J.; VAN DER MEER, J. W.; JOOSTEN, L. A. IL-1beta processing in host defense: beyond the inflammasomes. **PLoS Pathog**, v. 6, n. 2, e1000661, 2010.

NORO FILHO, G. A.; CASARIN, R. C.; CASATI, M. Z. & GIOVANI, E. M. PDT in non-surgical treatment of periodontitis in HIV patients: a split-mouth, randomized clinical trial. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 44, n. 4, p. 296–302, 2012.

NÚÑEZ, S. C., GARCEZ, A. S., GOMES, L., BAPTISTA, M. S., & RIBEIRO, M. S. Methylene blue aggregation in the presence of human saliva, **Progr. Biomed. Opt. Image**, v. 6846, p. 1–7, 2008.

O'CONNELL, P. A.; TABA, M.; NOMIZO, A.; FOSS FREITAS, M. C.; SUAID, F. A.; UYEMURA, S. A.; TREVISAN, G. L.; NOVAES, A. B.; SOUZA, S. L.; PALIOTO, D. B.; GRISI, M. F. Effects of periodontal therapy on glycemic control and inflammatory markers. **J Periodontol**, v. 79, n. 5, p. 774–783, 2008.

ODA, Shigeru; ISHIKAWA, Isao. In vitro Effectiveness of a Newly–designed Ultrasonic Sealer Tip for Furcation Areas. **Journal of periodontology**, v. 60, n. 11, p. 634-639, 1989.

OKADA, H.; MURAKAMI, S. Cytokine expression in periodontal health and disease. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 9, n. 3, p. 248–266, 1998.

PALIOTO, Daniela B. et al. Epigenetic and inflammatory events in experimental periodontitis following systemic microbial challenge. **Journal of clinical periodontology**, v. 46, n. 8, p. 819-829, 2019.

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 988–994, 2007

PETELIN, Milan et al. Effect of repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy on subgingival periodontal pathogens in the treatment of chronic periodontitis. **Lasers in medical science**, v. 30, n. 6, p. 1647-1656, 2015.

POLAK, D.; SHAPIRA, L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. **J Clin Periodontol**, v. 45, n. 2, p. 150–166, 2018.

POLANSKY, Raoul et al. Clinical effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 36, n. 7, p. 575-580, 2009.

POPŁAWSKA-KITA, Anna et al. Association between type 1 diabetes and periodontal health. **Advances in medical sciences**, v. 59, n. 1, p. 126-131, 2014.

POURABBAS, Reza et al. Effects of photodynamic therapy on clinical and gingival crevicular fluid inflammatory biomarkers in chronic periodontitis: A split-mouth randomized clinical trial. **Journal of periodontology**, v. 85, n. 9, p. 1222-1229, 2014.

PRADEEP, A. R.; ROOPA, Y.; SWATI, P. P. Interleukin-4, a T-helper 2 cell cytokine, is associated with the remission of periodontal disease. **Journal of periodontal research**, v. 43, n. 6, p. 712-716, 2008.

PRATES, R. A.; YAMADA, A. M.; SUZUKI, L. C.; FRANÇA, C. M.; CAI, S.; MAYER, M. P.; RIBEIRO, A. C., RIBEIRO, M. S. 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. **Photomedicine and laser surgery**, v. 29, n. 12, 835–844, 2011.

PRESHAW, P. M, BISSETT, S. M. Periodontitis and diabetes. ***Br Dent J***, v. 227, n. 7, p. 577-584, 2019.

PUSSINEN, P. J., PAJU, S., MÄNTYLÄ, P., & SORSA, T. Serum microbial- and host-derived markers of periodontal diseases: a review. **Curr Med Chem**, v. 14, n. 22, p. 2402–2412, 2007.

QUEIROZ, Adriana C. et al. Antimicrobial photodynamic therapy associated to nonsurgical periodontal treatment in smokers: microbiological results. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 141, p. 170-175, 2014.

RADVAR, M. et al. An evaluation of the Nd: YAG laser in periodontal pocket therapy. **British dental journal**, v. 180, n. 2, p. 57-62, 1996.

RAMOS, Umberto D. et al. Antimicrobial photodynamic therapy as an alternative to systemic antibiotics: results from a double-blind, randomized, placebo-controlled, clinical study on type 2 diabetics. **Journal of clinical periodontology**, v. 43, n. 2, p. 147-155, 2016.

RAMS, T. E.; DEGENER, J. E.; VAN WINKELHOFF, A. J. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. **J Periodontol**, n. 85, n. 1, p. 160–169, 2014.

RAUNIO, Taina et al. IL-6− 174 genotype associated with the extent of periodontal disease in type 1 diabetic subjects. **Journal of clinical periodontology**, v. 36, n. 1, p. 11-17, 2009.

RENVERT, S.; DAHLÉN, G.; WIKSTRÖM, M. Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years. **J Periodontol**, v. 67, n. 6, p. 562–571, 1996.

RODRIGUES, D. C.; TABA, M. J.; NOVAES, A. B.; SOUZA, S. L.; GRISI, M. F. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. **J Periodontol**, v. 74, n. 9, p. 1361–1367, 2003.

ROSENBLUM, M. G.; DONATO, N. J. Tumor necrosis factor alpha: a multifaceted peptide hormone. **Crit Rev Immunol**, v. 9, n. 1, p. 21–44, 1989.

ROSSI, M. E. R.; MORY, D.; DAVINI, E. Marcadores Genéticos e Auto-Imunes do Diabetes Melito Tipo 1: da Teoria para à Prática. **Arquivos Bras Endocrinol Metab**, v. 52, p. 166-180. 2008.

RÜHLING, Andreas et al. Photodynamic therapy of persistent pockets in maintenance patients—a clinical study. **Clinical oral investigations**, v. 14, n. 6, p. 637-644, 2010.

RYAN, G. B.; MAJNO, G. Acute inflammation. A review. **Am J Pathol**, v. 86, n. 1, p. 183-276, 1977.

SALVI, G. E.; BECK, J. D. & OFFENBACHER, S. PGE2, IL-1 beta, and TNF-alpha responses in diabetics as modifiers of periodontal disease expression. **Annals of Periodontology** v.3, n. 1, p. 40–50, 1998.

SALVI, Giovanni E. et al. Adjunctive laser or antimicrobial photodynamic therapy to non-surgical mechanical instrumentation in patients with untreated periodontitis: A systematic review and meta-analysis. **J Clin Periodontol**, v. 47, p. 176-198, 2020.

SALVI, Giovanni E. et al. Pro-inflammatory biomarkers during experimental gingivitis in patients with type 1 diabetes mellitus: a proof-of-concept study. **J periodontol**, v. 37, n. 1, p. 9-16, 2010.

SASTROWIJOTO, S. H.; VELDEN, U.; STEENBERGEN, T. J. M.; HILLEMANS, P.; HART, A. A. M.; GRAAFF, J.; ABRAHAM-INPIJN, L. Improved metabolic control, clinical periodontal status and subgingival microbiology in insulin-dependent diabetes mellitus. A prospective study. **J. Clin. Periodontol**, v. 17, n. 4, p. 233–242, 1990.

SCHNEIDER, M.; BERND, G.; NURKIM, N. L. Diabetes Mellitus e suas manifestações sobre o periodonto: uma revisão bibliográfica. **Rev. odonto ciênc**, n. 20, p. 89-98, 1995.

SCHROEDER, Hubert E.; LISTGARTEN, Max A. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. **Periodontology 2000**, v. 13, n. 1, p. 91-120, 1997.

ŠEDÝ, J.; BEKIARIS, V.; WARE, C. F. Tumor necrosis factor superfamily in innate immunity and inflammation. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 7, n. 4, a016279, 2014.

SÉGUIER, Sylvie et al. Impact of photodynamic therapy on inflammatory cells during human chronic periodontitis. **Journal of Photochemistry and photobiology B: Biology**, v. 101, n. 3, p. 348-354, 2010.

SEXTON, W. M.; LIN, Y.; KRYSCIO, R. J.; DAWSON, D. R. 3RD.; EBERSOLE, J. L.; MILLER, C. S. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. **J Clin periodontol**, v. 38, n. 5, p. 434–441, 2011.

SGOLASTRA, Fabrizio et al. Adjunctive photodynamic therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **Journal of clinical periodontology**, v. 40, n. 5, p. 514-526, 2013a.

SGOLASTRA, Fabrizio et al. Photodynamic therapy in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **Lasers in medical science**, v. 28, n. 2, p. 669-682, 2013b.

SHIMADA, Y.; KOMATSU, Y.; IKEZAWA-SUZUKI, I.; TAI, H.; SUGITA, N.; YOSHIE, H. The effect of periodontal treatment on serum leptin, interleukin-6, and C-reactive protein. **J periodontol**, v. 81, n. 8, p. 1118–1123, 2010.

SIGUSCH, Bernd W. et al. Full-Mouth Antimicrobial Photodynamic Therapy in Fusobacterium nucleatum–Infected Periodontitis Patients**. Journal of periodontology**, v. 81, n. 7, p. 975-981, 2010.

SILVA, T. A.; GARLET, G. P.; FUKADA, S. Y.; SILVA, J. S.; CUNHA, F. Q. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. **J. Dent. Res**, v. 86, n. 4, p. 306–319, 2007.

SIMA, C.; GLOGAUER, M. Diabetes mellitus and periodontal diseases. **Curr Diab Rep.** v. 13, n. 3, p. 445-452, 2013.

SIMPSON, T. C.; NEEDLEMAN, I.; WILD, S. H.; MOLES, D. R.; MILLS, E. J. Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes. **Cochrane Database Syst Rev**, v.12, n. 5, CD004714, 2010.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Periodontal microbial ecology. **Periodontol 2000**, v. 38, n. 1, p. 135–187, 2005.

SOUZA, Sérgio LS et al. Effects of Antimicrobial Photodynamic Therapy on Transforming Growth Factor-β 1 Levels in the Gingival Crevicular Fluid. **Photomedicine and laser surgery**, v. 31, n. 2, p. 65-71, 2013.

SPÄTH, A.; LEIBL, C.; CIEPLIK, F.; LEHNER, K.; REGENSBURGER, J.; HILLER, K. A.; BÄUMLER, W.; SCHMALZ, G. & MAISCH, T. Improving photodynamic inactivation of bacteria in dentistry: highly effective and fast killing of oral key pathogens with novel tooth-colored type-II photosensitizers. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n.12, p. 5157–5168, 2014.

STABHOLZ, A.; NICHOLAS, A. A.; ZIMMERMAN, G. J.; WIKESJÖ, U. M. Clinical and antimicrobial effects of a single episode of subgingival irrigation with tetracycline HCl or chlorhexidine in deep periodontal pockets. **J Clin Periodontol**, v. 25, n. 10, p. 794–800, 1998.

STADLER, A. F.; ANGST, P. D.; ARCE, R. M.; GOMES, S. C.; OPPERMANN, R. V.;

STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; VAN HAEFTEN, T. W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. **Lancet**, v. 365, n. 9467, p.1333–1346, 2005.

SU, H.; LEI, C. T.; ZHANG, C. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update. **Front immunol**, v. 8, p. 405, 2017.

SUN, K. T et al.The association between Type 1 diabetes mellitus and periodontal diseases. **Journal of the Formosan Medical Association**, 118(6), 1047–1054, 2019.

SUSIN, C. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. **J Clinical Periodontol**, v. 43, n. 9, p. 727–745, 2016.

TABA, M., JR.; KINNEY, J.; KIM, A. S.; GIANNOBILE, W. V. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. **Dent. Clin. N. Am**, v. 49, n. 3, p. 551–571, 2005.

TAYLOR, George W. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. **Annals of periodontology**, v. 6, n. 1, p. 99-112, 2001.

TAYLOR, J. J.; PRESHAW, P. M.; LALLA, E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes**. J Clin Periodontol**, v. 40, n.14, p. 113–134, 2013.

TELES, R. P.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbiological goals of periodontal therapy. **Periodontol 2000**, v. 42, n. 1, p. 180–218, 2006.

THEODORO, Letícia Helena et al. Comparison of repeated applications of aPDT with amoxicillin and metronidazole in the treatment of chronic periodontitis: A short-term study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 174, p. 364-369, 2017.

THEODORO, Letícia Helena et al. Treatment of periodontitis in smokers with multiple sessions of antimicrobial photodynamic therapy or systemic antibiotics: A randomized clinical trial. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 22, p. 217-222, 2018.

TRAMONTINA, R. G.; LOTUFO, R.; MICHELI, G.; KON, S. Diabetes: um fator de risco para doença periodontal. Quando? **RGO**, v. 45, n. 1, p. 50-54, 1997.

VALLE, Luisa Andrade et al. Blue photosensitizers for aPDT eliminate Aggregatibacter actinomycetemcomitans in the absence of light: an in vitro study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 194, p. 56-60, 2019.

VAN BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; VON HERRATH, M. G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. **Physiol. Rev**, v. 91, n. 1, p. 79–118, 2011.

VAN DER POLL, T.; ROMIJN, J. A.; ENDERT, E.; BORM, J. J.; BULLER, H. R. & SAUERWEIN, H. P. Tumor necrosis factor mimics the metabolic response to acute infection in healthy humans. **American Journal of Physiology** v. 261, n. 4 (pt.1), p. 457–465, 1991.

WILSON, M. Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases. **Int. Dent. J**, v. 44, n. 2, p. 181–189, 1994.

WOLFF, Ryan E.; WOLFF, Larry F.; MICHALOWICZ, Bryan S. A pilot study of glycosylated hemoglobin levels in periodontitis cases and healthy controls. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 7, p. 1057-1061, 2009.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation. 2006.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus**. World Health Organization, 1999.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus: abbreviated report of a WHO consultation**. World Health Organization, 2011.

WRIGHT, C. D.; MCNEIL, D. W.; EDWARDS, C. B.; CROUT, R. J.; NEISWANGER, K.; SHAFFER, J. R.; MARAZITA, M. L. Periodontal Status and Quality of Life: Impact of Fear of Pain and Dental Fear. **Pain Res. Manag**, 1–9, 5491923, 2017.

YAMAZAKI, K.; HONDA, T.; ODA, T.; UEKI-MARUYAMA, K.; NAKAJIMA, T.; YOSHIE, H.; SEYMOUR, G. J. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. **J Periodontal Res,** v. 40, n. 1, p. 53-58, 2005.

ZANDBERGEN, D.; SLOT, D. E.; NIEDERMAN, R.; VAN DER WEIJDEN, F. A. The concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole compared to scaling and root planing alone in treating periodontitis: a systematic review. **BMC Oral Health**, v. 16, n. 1, p. 27, 2016.

ANEXOS

ANEXO 1

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito adjuvante da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento periodontal e condição salivar de pacientes com diabetes mellitus tipo 1

Pesquisador: Paula de Oliveira Cunha

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 65048317.5.0000.5417

Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.959.932

Apresentação do Projeto:

Informa a pesquisadora que a doença periodontal (DP) é reconhecida como a sexta complicação mais frequente do diabetes mellitus (DM). Um grande número de estudos epidemiológicos demonstrou que a periodontite apresenta maior prevalência, incidência e severidade em pacientes com DM quando comparados com indivíduos sem diabetes. Além disso, a relação DM e DP acontece de forma biderecional, onde a DP é capaz de prejudicar o controle metabólico e alterar a resistência à glicose, portanto, haveria uma hipótese que o tratamento para DP auxiliaria no controle dos níveis glicêmicos destes pacientes. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da terapia periodontal associada a terapia fotodinâmica antimicrobiana e suas correlações com controle glicêmico, condições salivares e presença de citocinas inflamatórias no fluido gengival de pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1, comparando a grupos de pacientes sem diabetes, após acompanhamento de 3 e 6 meses. Serão formados 4 grupos - Drar e Dpt (pacientes com diabetes); Rar e Pdt (pacientes sem diabetes) para terem os parâmetros salivares (ph, capacidade tampão e glicose salivar), parâmetros periodontais (profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, índice de placa, índice de sangramento), quantificação de citocinas inflamatórias (biológicos IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-, osteocalcina e OPG/RANKL) e glicemia capilar avaliados nos períodos pré-tratamento periodontal (com e sem

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

associação de aPDT) e pós-tratamento periodontal(1, 3 e 6 meses). Para os pacientes com diabetes, também será analisada a presença de variação na hemoglobina glicada durante o estudo. A análise estatística será realizada de forma descritiva das condições encontradas e serão realizados possíveis testes de correlação entre os exames realizados a um nível de significância de 5% ($p<0.05$).

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da terapia periodontal associada a terapia fotodinâmica antimicrobiana e suas correlações com controle glicêmico, condições salivares e presença de citocinas inflamatórias no fluido gengival de pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1, comparando a grupos de pacientes sem diabetes, após acompanhamento de 3 e 6 meses.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O risco inerente à coleta de todas amostras é insignificante, podendo o paciente apenas sentir desconforto durante o exame periodontal ou dor leve ao se perfurar o dedo para coletar a gota de sangue no exame de glicemia capilar. O risco em relação aos tratamentos propostos são aqueles comuns a qualquer tratamento odontológico, como pequeno sangramento durante raspagem, sensibilidade ou desconforto, que ocorreriam mesmo que não estivesse participando da pesquisa.

Benefícios:

Os benefícios da participação na pesquisa serão obter tratamento e controle da saúde periodontal durante o tempo que participar da pesquisa e ajudar no esclarecimento da relação da doença periodontal e o diabetes. Os resultados desta pesquisa poderão auxiliar em novos protocolos de atendimento odontológico para pacientes com diabetes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não há.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos foram apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante da apresentação de toda documentação exigida corretamente, sou de parecer favorável a aprovação do Projeto de Pesquisa.

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

Considerações Finais a critério do CEP:

Esse projeto foi considerado APROVADO na reunião ordinária do CEP de 18.03.2017, com base nas normas éticas da Resolução CNS 466/12. Ao término da pesquisa o CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatório final. Os relatórios parciais deverão estar de acordo com o cronograma e/ou parecer emitido pelo CEP. Alterações na metodologia, título, inclusão ou exclusão de autores, cronograma e quaisquer outras mudanças que sejam significativas deverão ser previamente comunicadas a este CEP sob risco de não aprovação do relatório final. Quando da apresentação deste, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação assinados e rubricados, se pertinentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_828343.pdf	15/02/2017 23:13:44		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDocCEP.pdf	15/02/2017 23:08:07	Paula de Oliveira Cunha	Aceito
Outros	Questionario_qualidadesaude.pdf	15/02/2017 22:19:12	Paula de Oliveira Cunha	Aceito
Outros	cartaaquiescencia.pdf	15/02/2017 21:49:14	Paula de Oliveira Cunha	Aceito
Outros	questionariotecpeq.pdf	15/02/2017 21:48:46	Paula de Oliveira Cunha	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodecomp.pdf	15/02/2017 21:47:10	Paula de Oliveira Cunha	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEDoc_Paula.pdf	15/02/2017 21:43:31	Paula de Oliveira Cunha	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoassinda.pdf	15/02/2017 21:39:33	Paula de Oliveira Cunha	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

Continuação do Parecer: 1.959.932

BAURU, 10 de Março de 2017

Assinado por:
Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

ANEXO 2

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Departamento de Prótese e Periodontia

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

EFEITO ADJUVANTE DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO PERIODONTAL E CONDIÇÃO SALIVAR DE PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 1

Você está sendo convidado a participar da pesquisa acima intitulada sob responsabilidade da doutoranda Paula de Oliveira Cunha que tem como objetivo avaliar o efeito do tratamento periodontal convencional ou complementado pelo laser (terapia fotodinâmica antimicrobiana) sobre o controle do diabetes e condições salivares. Essa pesquisa é dividida em 3 fases e todos os atendimentos serão realizados na clínica de pós-graduação de Periodontia da FOB:

Fase 1: Você será submetido a uma consulta inicial onde serão feitos preenchimento de fichas, aplicação de um questionário sobre qualidade de vida relacionada à saúde oral, exame intra-oral, exame de glicemia capilar e coleta da saliva. O exame intra-oral é um exame de rotina em nossa faculdade e visa avaliar as condições de suas gengivas, dentes e ossos em volta dos dentes através da introdução de um instrumento milimetrado (sonda periodontal), com ponta fina e não cortante, no espaço entre a gengiva e o dente. Este procedimento será realizado em todos os dentes permanentes presentes em sua boca. O exame de glicemia capilar será realizado através de uma pequena perfuração da ponta de um dedo para coleta de uma gota de sangue em uma fita de papel sensível, que será introduzida no aparelho (glicosímetro) que fará a medição do nível de glicose no sangue naquele momento. Em seguida essa fita será descartada. Para os pacientes não diabéticos, em caso de encontrar alguma alteração da glicemia, estes serão encaminhados para um endocrinologista. Para a coleta da saliva, você será instruído a mastigar um pequeno pedaço de plástico sem cor ou sabor (Parafilm®), por um tempo determinado, para que a produção de sua saliva seja estimulada e então, deverá cuspir a saliva produzida em um pote estéril que será lacrado e transportado em gelo para o laboratório. A saliva será utilizada para análises laboratoriais em sua totalidade e, no caso de sobra, será devidamente descartada.

Fase 2: Duas abordagens de tratamento serão testadas nessa pesquisa. A técnica utilizada em você será selecionada ao acaso (sorteio). Você poderá ser submetido apenas ao tratamento periodontal mecânico convencional, com uso de curetas para remoção do cálculo ou poderá fazer parte do grupo que irá associar a raspagem à terapia fotodinâmica antimicrobiana, que consiste no uso de um corante entre o dente e a gengiva, seguido de ativação por uma fonte de luz (laser). Será necessária sua disponibilidade de comparecer a três consultas com intervalos de 7 dias entre elas. No dia da primeira consulta para início do tratamento, será coletado o fluido gengival nos dentes que apresentarem pior condição periodontal. Esse exame do fluido serve para avaliar a quantidade de inflamação presente na gengiva antes e após tratamento. Serão selecionados apenas 4 dentes através da interpretação dos dados obtidos na consulta inicial. A coleta será realizada com a inserção de um cone de papel (muito macio) entre o dente e a gengiva por um período de 30 segundos e então armazenados em um pote para futuras análises laboratoriais. Ao final da pesquisa, todos os cones de papel contendo suas amostras serão descartados.

Fase 3: Esta é a fase de manutenção e controle dos procedimentos realizados na fase 2. Você será orientado a retornar à Faculdade para realização de novas consultas após completar 3 e 6 meses do término do tratamento. Durante essas consultas, serão realizadas novamente coletas de saliva, fluido gengival, glicemia capilar e exame periodontal, além do preenchimento do questionário sobre qualidade de vida relacionada à saúde oral. Novos procedimentos de raspagem com curetas e ultrassom podem ser realizados, de acordo com sua necessidade.

Rubrica Pesquisador Responsável

Rubrica Participante de Pesquisa

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
e-mail: marcela@fob.usp.br – Fone/FAX (0xx14) 3235-8366
http://www.fob.usp.br

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Departamento de Prótese e Periodontia

As consultas terão horários determinados e os participantes são responsáveis pela vinda até a Faculdade, estando a pesquisadora prontamente a recebê-los no horário e local previamente estipulados. Não ocorrerá nenhuma despesa de sua parte para o desenvolvimento da pesquisa, portanto não haverá ressarcimento de custos. Caso haja algum dano eventual decorrente dos procedimentos da pesquisa, você poderá procurar seus direitos de indenização de danos. Você poderá se negar a participar ou abandonar a pesquisa a qualquer momento sem penalização ou prejuízo algum. O pesquisador se compromete a oferecer tratamento periodontal aos pacientes. Em caso de necessidade de tratamentos em outras especialidades da Odontologia (restaurações, canal, etc.), o paciente será encaminhado para tratamento nas outras clínicas, seguindo o protocolo de encaminhamento estabelecido pela faculdade para pacientes já em tratamento.

O risco inerente à coleta de todas suas amostras é insignificante, podendo apenas sentir desconforto durante o exame periodontal ou dor leve ao se perfurar o dedo para coletar a gota de sangue no exame de glicemia capilar. O risco em relação aos tratamentos propostos são aqueles comuns a qualquer tratamento odontológico, como pequeno sangramento durante raspagem, sensibilidade ou desconforto, que ocorreriam mesmo que não estivesse participando da pesquisa. Em caso de desconforto maior, esta será controlada por anestesia e/ou medicamentos para controle de dor. Os benefícios da participação na pesquisa serão obter tratamento e controle da saúde periodontal durante o tempo que participar da pesquisa, bem como instrução de como manter a saúde periodontal quando receber alta. Também, ajudar no esclarecimento da relação da doença periodontal e o diabetes. Os pacientes sorteados para o grupo somente raspagem não sofrerão nenhum prejuízo ao seu tratamento, uma vez que este é o tratamento convencional para doença periodontal. Em caso de superioridade significante de resultados para o grupo que receberá terapia fotodinâmica antimicrobiana, todos os participantes serão assim tratados. Os resultados desta pesquisa poderão auxiliar em novos protocolos de atendimento odontológico para pacientes com diabetes. Não haverá armazenamento de material biológico. Em caso de sobra, este será imediatamente descartado após as análises laboratoriais.

Todos os dados obtidos serão utilizados posteriormente para publicações científicas nacionais e internacionais, levando sempre em conta a ética, respeito e seriedade profissional, bem como o sigilo de seu nome. Em caso de alguma dúvida da pesquisa, a qualquer momento o senhor pode procurar a responsável Paula de Oliveira Cunha pelo telefone 0XX14 - 3235-8366, como pelo e-mail paulacunha@usp.br. Em caso de reclamação e/ou denúncia entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB-USP), pelo endereço: Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 ou pelo telefone 0XX143235-8356.

Com o abandono da pesquisa, todos os dados obtidos e informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e serão totalmente guardados por força do sigilo profissional, como apresentado no Art. 9º do Código de Ética Odontológica.

Rubrica Pesquisador Responsável

Rubrica Participante de Pesquisa

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
e-mail: marcela@fob.usp.br – Fone/FAX (0xx14) 3235-8366
http://www.fob.usp.br

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Departamento de Prótese e Periodontia

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, declara e firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o participante da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Cap. III, Art. 9º do Código de Ética Odontológica (Res. CFO-118/2012)). Por fim, como pesquisadora responsável pela pesquisa, comprometo-me a cumprir todas as exigências contidas no item IV.3 e IV.4 da resolução do CNS/MS nº 466 de dezembro de 2012, publicada em 13 de junho de 2013. Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias igualmente válidas (uma via para o participante da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término, conforme disposto pela Resolução CNS nº. 466 de 2012, itens IV.3.f e IV.5.d.

Bauru, SP, _____ de _____ de _____.

_____ _____

Pesquisadora responsável
Paula de Oliveira Cunha

Participante da Pesquisa

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, organizado e criado pela **FOB-USP**, em 29/06/98 (**Portaria GD/0698/FOB**), previsto no item VII da Resolução CNS nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (publicada no DOU de 13/06/2013), é um Colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Qualquer denúncia e/ou reclamação sobre sua participação na pesquisa poderá ser reportada a este CEP:
Horário e local de funcionamento:
Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira, no horário das **14hs às 17 horas**, em dias úteis.
Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75
Vila Universitária – Bauru – SP – CEP 17012-901
Telefone/FAX (14)3235-8356
e-mail: cep@fob.usp.br