



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**



GIOVANA SAVASTANO JORGE

**EFEITO DA LASERTERAPIA COM DUPLO
COMPRIMENTO DE ONDA SOBRE O
TRATAMENTO DA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM ANIMAIS NORMO-
HIPERGLICÊMICOS**

UBERLÂNDIA

2021

GIOVANA SAVASTANO JORGE

**EFEITO DA LASERTERAPIA COM DUPLO
COMPRIMENTO DE ONDA SOBRE O
TRATAMENTO DA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM ANIMAIS NORMO-
HIPERGLICÊMICOS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Faculdade de Odontologia da
UFU, como requisito parcial para obtenção do
título de Graduado em Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Guilherme José
Pimentel Lopes de Oliveira

Co-orientador: Vithor Xavier Resende
de Oliveira

UBERLÂNDIA

2021

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho de conclusão de curso a todos que passaram por mim, durante minha trajetória na faculdade, a todos que de alguma forma fizeram parte para eu chegar até aqui e a todos que contribuíram para a minha formação acadêmica e profissional. Dedico ainda, a todos que vem até este trabalho buscar novos conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família que esteve comigo desde o princípio e em todos os momentos, minha mãe, Mônica, meu pai, Paulo César e meus irmãos, Natália e Nelson.

Agradeço fortemente a minha prima Ingrid, por me ajudar na redação deste.

Meu professor e meu co-orientador por dividir essa pesquisa e horas de estudo.

Aos meus amigos que compartilharam comigo, manhãs, clínicas e horas de estudo, principalmente ao Luiz Otávio, à Náthaly e à Luísa, que além de tudo, compartilharam comigo duplas e trios em clínicas.

Agradeço, ainda, a todos pacientes atendidos na Universidade, que contribuíram para a construção do meu eu profissional.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO	10
PROPOSIÇÃO	13
HIPÓTESE	15
MATERIAIS E MÉTODOS	17
<i>Animais e grupos</i>	18
<i>Indução da hiperglicemia</i>	19
<i>Indução da doença periodontal</i>	19
<i>Irradiação com laser de baixa intensidade vermelho e infra-vermelho</i>	20
<i>Obtenção de peças cirúrgicas</i>	21
<i>Análise microtomográfica</i>	21
<i>Tamanho da amostra</i>	22
<i>Análise estatística</i>	22
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO	26
CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	32

Resumo

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da Laserterapia em baixa intensidade (LLLT) com comprimento de onda de luz infra-vermelho e vermelho no reparo periodontal após tratamento da periodontite induzida em ratos normo- e hiperglicêmicos através de análise microtomográfica. Nesse estudo foram utilizados 32 ratos que foram randomicamente distribuídos em 4 grupos com 8 animais cada, de acordo com a condição sistêmica e o tipo de tratamento que os animais foram submetidos: **CTR-N**: Animais normoglicêmicos sem LLLT; **IRL/RL-N**: Animais normoglicêmicos tratados por LLLT; **CTR-H**: Animais hiperglicêmicos sem LLLT; **IRL/RL-H**: Animais hiperglicêmicos tratados por LLLT. A periodontite foi induzida por meio da instalação de uma ligadura ao redor do segundo molar superior que foi mantida em posição por 7 dias. A aplicação da LLLT ocorreu no dia da remoção da ligadura e os animais foram eutanasiados após 7 dias desse tratamento. Foram avaliados por meio da análise microtomográfica a distância da junção cimento esmalte ao topo da crista óssea (JCE-CO), o volume ósseo ao redor do segundo molar superior (BV/TV%) e a microestrutura do tecido ósseo (Espessura, espaço e número de trabéculas – Tb.Th; Tb.Sp e Tb.N). Os animais do grupo **CTR H** apresentaram maiores valores de JCE-CO ($p < 0.05$), menores valores de BV/TV% ($p < 0.05$), menor quantidade de Tb.N ($p < 0.05$), e maior Tb.Sp ($p < 0.05$) que todos os outros grupos. Além disso, os animais do grupo **CTR H** apresentaram menor Tb.Th que o grupo **R-IRL H** ($p < 0.05$). Pode-se concluir que os animais hiperglicêmicos são mais susceptíveis a desenvolver uma doença periodontal mais severa. Porém, o tratamento da periodontite experimental com LLLT com luz vermelha e infra-vermelha equalizou o reparo periodontal e a estrutura óssea em animais normo- e hiperglicêmicos.

Palavras-Chave: Diabetes, laser, periodontite.

Abstract

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of low intensity laser therapy (LLLT) with infrared and red-light wavelength on the periodontal repair after treatment of experimental periodontitis induced in normo- and hyperglycemic rats by μ CT analysis. Thirty-two rats were randomly allocated in 4 groups of 8 animals each according to the systemic condition and the type of treatment that the animals were submitted: **CTR-N**: Normoglycemic animals without LLLT; **IR/RL-N**: Normoglycemic animals treated by LLLT; **CTR-H**: Hyperglycemic animals without LLLT; **IRL/RL-H**: Hyperglycemic animals treated by LLLT. Periodontitis was induced by installing a ligature around the upper second molar that was held in place for 7 days. The application of LLLT occurred on the day of the ligature removal. The animals were euthanized after 7 days of this treatment. The distance from the enamel-cement junction to the top of the crestal bone (ECJ-CB), the bone volume around the upper second molar (BV/TV%), and the microstructure of the bone tissue (thickness, space and number of trabeculae - Tb.Th; Tb.Sp and Tb.N) was assessed. The animals in the **CTR H** group showed higher ECJ-CB ($p < 0.05$), lower BV/TV% ($p < 0.05$), less Tb.N ($p < 0.05$), and higher Tb.Sp ($p < 0.05$) than all other groups. In addition, animals in the **CTR H** group had lower Tb.Th than the **R-IRL H** group ($p < 0.05$). It can be concluded that hyperglycemic animals are more likely to develop more severe periodontal disease. However, the treatment of experimental periodontitis with LLLT with red and infrared light equalized periodontal repair and bone structure in normo- and hyperglycemic animals.

Keywords: Diabetes, laser, periodontitis.

Introdução

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença de caráter inflamatório destrutivo induzida pelo biofilme dentário sendo considerada como uma das maiores causas de perda dentária na população humana (Kurgan & Kantarci, 2018). Tradicionalmente, tem sido relatado que o tratamento periodontal não-cirúrgico associado aos procedimentos de terapia periodontal de suporte são suficientes para estabilizar a progressão da doença periodontal na maioria dos indivíduos (Lee et al., 2015), entretanto, fatores de risco para progressão da doença periodontal tem demonstrado influenciar no resultado final da terapia periodontal não-cirúrgica (Johnson & Guthmiller, 2007).

A diabetes *mellitus* é uma doença metabólica caracterizada pela ocorrência da hiperglicemia que promove impactantes distúrbios fisiológicos que alteram a homeostase corporal (Farr & Khosla, 2016). O aumento da taxa glicêmica está relacionado ao aumento da concentração das moléculas de glicose no sangue e ao aumento da ligação dessas moléculas a importante proteínas carreadoras (eg. hemoglobina) (Rhee & Kim, 2018) e estruturais (eg. colágeno) (Karim & Bouxsein, 2016). Essas proteínas ligadas a glicose se convertem em produtos terminais da glicação avançada (Ages) que são moléculas que potencializam as reações inflamatórias mediadas pelas células de defesa do hospedeiro (Chang et al., 2013), o que causa uma hiper-reatividade dessas células frente ao desafio microbiano (Chang et al., 2013; D'Aiuto et al., 2017). Esse aumento da hiper-reatividade das células inflamatórias frente ao desafio microbiano é o motivo pelo qual os pacientes portadores de diabetes *mellitus* estão sobre maior risco de apresentarem progressão mais rápida da doença periodontal (Chang et al., 2013; D'Aiuto, 2017), maior presença de defeitos ósseos periodontais (Plessas et al., 2018) e maior índice de perdas dentárias na idade adulta (Patel et al., 2013). Consequentemente, protocolos terapêuticos que auxiliem no tratamento da doença periodontal são essenciais para se melhorar a previsibilidade do tratamento periodontal nesses casos.

O laser de baixa intensidade é conceituado como um laser que não causa alteração morfológica nos tecidos. Na odontologia, os lasers têm sido utilizados em praticamente todas suas áreas de conhecimento. Uma revisão de literatura sobre aplicação da laserterapia no tratamento periodontal não-cirúrgico descreveu que essa terapia promove melhorias adicionais nos parâmetros periodontais tanto em periodontite crônica como agressiva quanto aplicados associados a raspagem (Coob et al., 2017). Justifica-se esses resultados devido a propriedades antimicrobianas com a fotoativação promovida pelo laser sobre o agente fotossensibilizador induzindo a formação de espécies reativas de oxigênio (Passanezi et al., 2015), entretanto os efeitos bioestimulatórios da irradiação de baixa intensidade também podem ter de induzir uma aceleração da cicatrização periodontal (Passanezi et al., 2015; Coob et al., 2017).

Para a aplicação em baixa intensidade dois grupos de lasers tem sido utilizados de acordo com o comprimento de luz: vermelho (660nm) e infravermelho (830nm) (Cunha et al., 2009; Freddo et al., 2009). Entretanto os lasers com comprimento de onda dentro da faixa da luz infravermelha apresentam maior penetrabilidade dentro dos tecidos e por isso são preferíveis na aceleração da cicatrização óssea (Jakse et al., 2007; Freddo et al., 2009), porém o seu protocolo de tratamento requer 7 sessões de irradiação, o que pode ser clinicamente inviável. Nesse contexto, aplicações únicas do laser vermelho também têm demonstrado serem efetivos no processo de regeneração óssea em estudos pré-clínicos em animais imunossuprimidos (Garcia et al., 2014; Garcia et al., 2018), com a vantagem de que apenas uma única aplicação trans-cirúrgica já é efetiva na promoção de efeitos benéficos na cicatrização óssea (Garcia et al., 2014; Garcia et al., 2018). A comparação direta do laser vermelho e infra-vermelho e a sua utilização de forma combinada para o tratamento periodontal ainda carece de maiores investigações. Dessa forma, o objetivo desse estudo será de comparar o efeito da Laserterapia em baixa intensidade (LLLT) com laser infra-vermelho e vermelho no reparo periodontal após tratamento da periodontite induzida em ratos normo- e hiperglicêmicos.

Proposição

PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi de avaliar o efeito da Laserterapia em baixa intensidade (LLLT) com comprimento de onda de luz infra-vermelho e vermelho no reparo periodontal após tratamento da periodontite induzida em ratos normo- e hiperglicêmicos por meio de análise microtomográfica.

Hipótese

HIPÓTESE

H0- A utilização de laserterapia em baixa intensidade com a associação da luz vermelha e infra-vermelha não apresentará efeitos distintos no reparo periodontal em relação a não aplicação de outro tratamento adjunto.

H1- A utilização de laserterapia em baixa intensidade com a associação da luz vermelha e infra-vermelha apresentará efeitos distintos no reparo periodontal em relação a não aplicação de outro tratamento adjunto.

Material e Métodos

MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi aprovado junto ao Comitê de ética de utilização de animais da Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Faculdade de Odontologia de Uberlândia, Brasil (025/19). Para esse estudo foram utilizados 32 ratos (*Rattus norvegicus*, variação *Wistar*) com 3 meses de idade, com peso entre 250–300 g que foram mantidos em um ambiente com temperatura ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$), humidade (65–70%), e ciclos de luz (12 horas) controlado. Os animais foram alimentados com ração apropriada e foi oferecido água e ração *ad libitum*. Esse estudo foi conduzido de acordo com o protocolo ARRIVE para conduta de estudos pré-clínicos.

Animais e grupos

Os 32 animais foram randomicamente distribuídos em 4 grupos com 8 animais cada de acordo com a condição sistêmica e o tipo de tratamento que os animais foram submetidos: **CTR-N**: Animais normoglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura; **IRL/RL-N**: Animais normoglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura associado a irradiação do laser vermelho e infra-vermelho; **CTR-H**: Animais hiperglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura; **IRL/RL-H**: Animais hiperglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura associado a irradiação do laser vermelho e infra-vermelho. A distribuição dos grupos está disposta na figura 1.

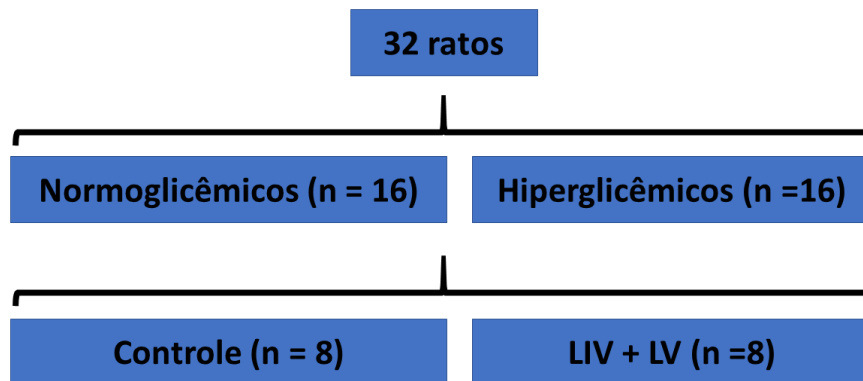


FIGURA 1 – Distribuição dos animais entre os grupos

Indução da hiperglicemia

Para a indução da hiperglicemia, os animais foram submetidos à administração, por via intraperitoneal de estreptozotocina 50 mg/kg dissolvida em tampão citrato pH 4.5, após um período de 16 horas de jejum, exceto água ad libitum. Os animais que foram mantidos normoglicêmicos receberam injeção de solução salina via intraperitoneal no mesmo volume. Após 24 horas da indução foi executada a comprovação do quadro de hiperglicemia por meio da análise da taxa glicêmica na qual foram considerados hiperglicêmicos os animais com glicemia superior a 300mg/dl. Avaliações semanais do nível glicêmico foram realizadas durante todo o estudo para assegurar esta condição. Após um mês do procedimento de indução da hiperglicemia, os animais foram submetidos a indução da doença periodontal.

Indução da doença periodontal

Os animais foram anestesiados por uma combinação de Quetamina (Agener União Ltda, São Paulo, SP, Brasil) na dosagem de 8mg/Kg de massa corporal com Xilazina (Rompum, Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil) na dosagem de 4 mg/Kg de massa corporal. Posteriormente, os ratos foram colocados em posição supina na mesa operatória e tiveram a boca retraída por um retrator para

afastar mandíbula e língua, facilitando a abertura bucal. Ligaduras (fios de algodão, nº 24) foram inseridas através de sonda e pinça específicas na região subgingival em volta dos segundos molares superiores em ambos os lados, para que a periodontite fosse induzida através do acúmulo de biofilme bacteriano. Após um período de 7 dias, as ligaduras foram removidas e os tratamentos foram executados. O fluxograma do experimento está exposto na figura 2.

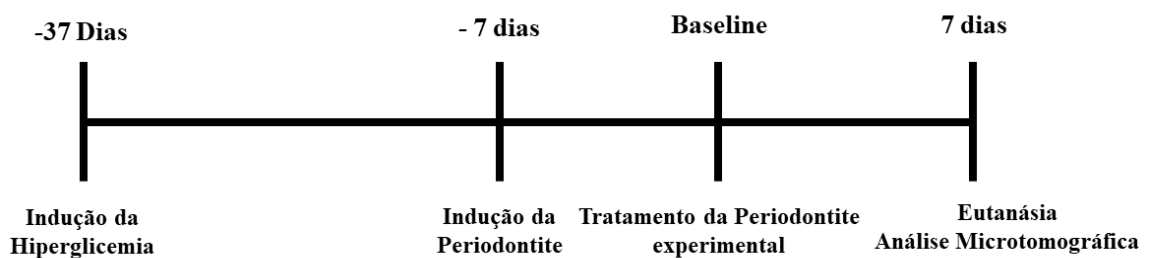


FIGURA 2 – Fluxograma do experimento

Irradiação com Laser de Baixa intensidade vermelho e infra-vermelho

O laser de GaAIs (TheraLase, λ 660nm – Luz Vermelha, λ 808nm – Luz infra-vermelha, 100mW, ϕ \sim 0.600 μ m, divergência da ponta = 0.37rad, CW, área do spot de 0,0283 cm², DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brazil) foi utilizado para execução das irradiações. Após a remoção das ligaduras, foram realizadas 4 irradiações em cada face do segundo molar superior (Vestibular, palatina, mesial e distal) de tal forma que englobasse toda a área. O laser foi irradiado no trans-cirúrgico em cada um dos pontos de irradiação, por 10 segundos em cada ponto, totalizando 40 segundos de irradiação por sessão. A energia aplicada em cada ponto foi de 1 J por ponto, o que resultou um total de 4 J por sessão. A densidade de energia de irradiação utilizada foi de aproximadamente 35,33 J/cm²/ponto, totalizando 141,32 J/cm² por sessão.

Obtenção das peças cirúrgicas

Decorridos o período experimental de 7 dias após a remoção das ligaduras, os animais foram submetidos a eutanásia por sobredose anestésica. As hemimaxilas foram removidas e fixadas em paraformaldeído a 4 % por um período de 48 horas. Logo após esse período, as peças cirúrgicas foram mantidas em álcool 70° até o momento do escaneamento no microtomógrafo e por fim foram descalcificadas em EDTA 7% para posterior análise histométrica (A ser realizado para outro estudo).

Análise microtomográfica

As amostras foram escaneadas em um microtomógrafo (Skyscan, Aartselaar, Bélgica) e posteriormente reconstruídas, reorientadas espacialmente e analisadas por softwares específicos (NRecon/DataViewer/CTan, Skyscan, Aartselaar, Bélgica). Nos grupos de animais hiperglicemicos, foram executados a análise do volume do tecido ósseo entre as raízes do segundo molar superior que foi mensurado após delimitação da região de interesse (ROI) que apresentou uma área retangular que medirá 1080x1020 μm^2 e profundidade de 60 secção com 18 μm de espessura cada sendo que foi utilizado uma threshold de 55-250 tons de cinza para avaliação do volume do osso. Os valores foram fornecidos como % de tecido óssea na região de interesse. A seleção do ROI foi realizada por um examinador cego, treinado e calibrado. Adicionalmente a isso, análise lineares da distância da junção cimento-esmalte (JCE) ao topo da crista óssea (CO) foi executada ao redor do dente em 6 pontos (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-palatino, palatino e disto-palatino). A forma como foi executado a periodontite experimental e as análises microtomográficas estão expostos na figura 3.



FIGURA 3 – A) Indução da periodontite experimental por meio da utilização de ligaduras ao redor do segundo molar superior; B) Modelo das análises microtomográficas onde o quadro vermelho expõe a região de interesse da análise volumétrica, enquanto que as linhas azuis exemplificam as mensurações lineares da junção cimento-esmalte até o topo da crista óssea.

Tamanho da amostra

A variável primária desse estudo foi o volume de tecido ósseo dentro do ROI avaliado por análise microtomográfica, dessa forma o cálculo de amostra foi executado tendo como base esse tipo de análise. Foi utilizado os dados de volume de tecidos mineralizados do estudo de Oliveira et al. 2016 que utilizou um modelo semelhante ao executado nesse estudo e que avaliou o efeito do extrato de óleo insaponificável de abacate e soja sobre o reparo periodontal após remoção de ligaduras que induziram previamente a periodontite experimental. Foi verificado nesse estudo que a diferença entre as médias do volume da porcentagem de osso dentro do ROI entre o grupo controle e o grupo teste foi de 12.72 com desvio padrão médio de 6.61. Dessa forma, foi determinado que o mínimo de amostra deveria ser de 8 animais por grupo para se obter um poder β do estudo de 0.85 e o poder α de 0.05.

Análise Estatística

O software GraphPad Prism 5 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para aplicação dos testes estatísticos. Os dados obtidos pelas análises

microtomográfica foram numéricos e devido a isso um teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi aplicado e confirmou que os dados se distribuíram de acordo com a normalidade. Dessa forma, os dados dessa análise foram comparados por meio do teste paramétrico de One-way Anova complementado pelo teste de Tukey. Todos os testes foram aplicados com nível de confiança de 95% ($p < 0.05$).

Resultados

Resultados

Foi verificado que os animais do grupo **CTR H** apresentaram de uma forma geral piores parâmetros de formação de tecido ósseo e microestrutura que todos os outros grupos. Com relação a análise linear, o grupo **CTR H** ($905.0 \pm 203.8 \mu\text{m}$) apresentou maiores distância da JCE-CO que todos os outros grupos (**CTR N** - $531.5 \pm 40.36 \mu\text{m}$; **R-IRL N** - $475.5 \pm 46.65 \mu\text{m}$; **R-IRL H** - $683.8 \pm 208.0 \mu\text{m}$) ($p < 0.05$). Além disso, os animais do grupo **R-IRL N** apresentaram menor distância da JCE-CO que os animais do grupo **R-IRL H** ($p < 0.05$). Com relação a análise volumétrica, os animais do grupo **CTR H** ($39.08 \pm 10.14 \%$) apresentaram menores valores de BV/TV% que todos os outros grupos (**CTR N** - $50.94 \pm 3.79 \%$; **R-IRL N** - $54.06 \pm 3.32 \%$; **R-IRL H** - $58.66 \pm 6.48 \%$) ($p < 0.05$).

Com relação a análise da microestrutura óssea, os animais do grupo **CTR H** ($10.07 \pm 1.91 \text{ mm}$) apresentaram menor espessura de trabéculas (Tb.Th) que o grupo **R-IRL H** ($14.48 \pm 3.86 \text{ mm}$) ($p < 0.05$). O grupo **CTR H** ($21.62 \pm 9.82 \text{ mm}$) apresentou maiores valores de espaçamento entre as trabéculas (Tb.Sp) que todos os outros grupos (**CTR N** - $10.41 \pm 1.01 \text{ mm}$; **R-IRL N** - $9.89 \pm 0.20 \text{ mm}$; **R-IRL H** - $11.40 \pm 4.76 \text{ mm}$) ($p < 0.05$). Por fim, os animais do grupo **CTR H** ($0.031 \pm 0.013 \text{ 1/mm}$) apresentou menores valores de número de trabéculas (Tb.N) que todos os outros grupos (**CTR N** - $0.048 \pm 0.003 \text{ 1/mm}$; **R-IRL N** - $0.051 \pm 0.003 \text{ 1/mm}$; **R-IRL H** - $0.045 \pm 0.008 \text{ 1/mm}$) ($p < 0.05$).

A figura 4 expõe as imagens representativas sagitais e coronais obtidas por meio da análise microtomográfica de todos os grupos. Adicionalmente, essa imagem expõe os gráficos de média e desvio padrão dos dados da distância da JCE-CO (μm); BV/TV (%), Tb.Th (mm), Tb.Sp (mm) e Tb.N (1/mm).

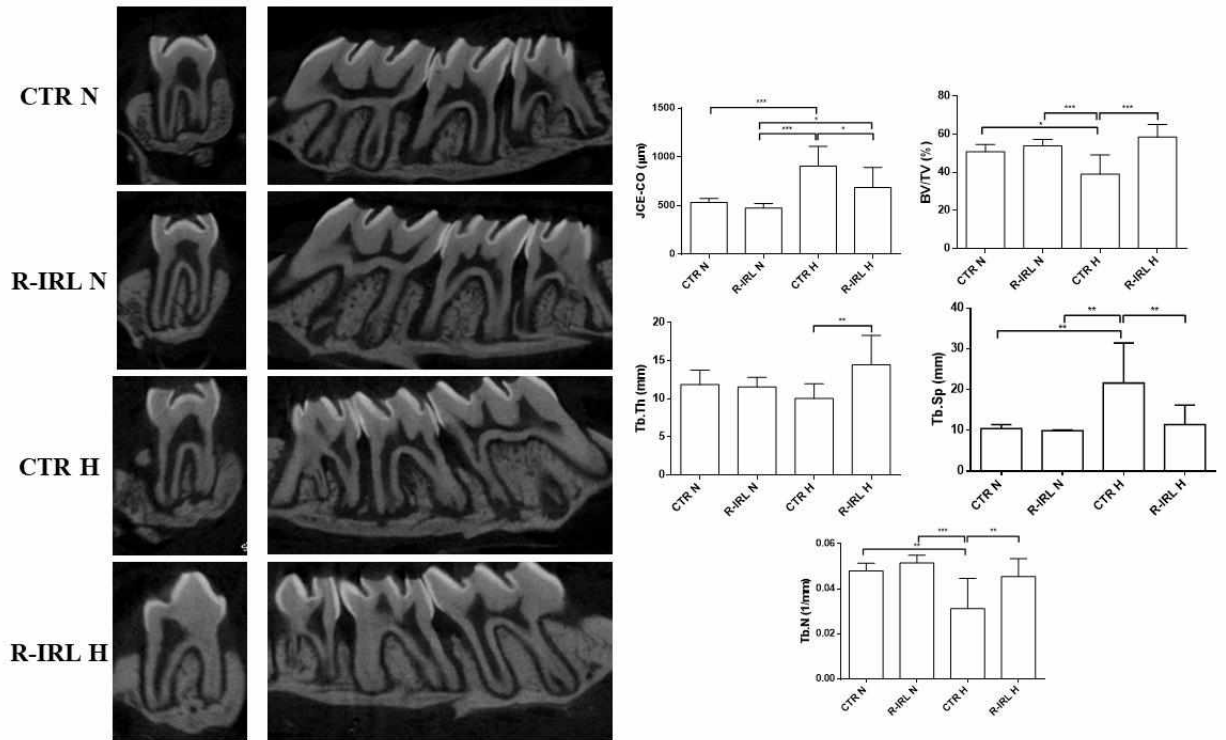


FIGURA 4 – Imagens representativas sagitais e coronais obtidas por meio da análise microtomográfica de todos os grupos. Adicionalmente, essa imagem expõe os gráficos de média e desvio padrão dos dados da distância da JCE-CO (μm); BV/TV (%), Tb.Th (mm), Tb.Sp (mm) e Tb.N (1/mm). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ – Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos – One-way Anova complementado pelo teste de Tukey.

Discussão

DISCUSSÃO

A diabetes *mellitus* é uma doença metabólica de alta prevalência que é considerada um fator de risco para doença periodontal. O tratamento das periodontites em pacientes diabéticos apresenta resultados mais limitados do que em paciente saudáveis, e devido a isso, a busca por tratamentos adjuntos que melhorem a previsibilidade do tratamento nessa população é de alta necessidade. Nesse estudo, propomos a utilização da laserterapia em baixa intensidade com duplo comprimento de onda (Vermelho e Infra-vermelho) como terapia adjunta ao tratamento periodontal em um modelo de periodontite experimental executado em animais normo- e hiperglicêmicos.

Nesse estudo foi observado que os animais hiperglicêmicos apresentaram maiores perdas de tecido ósseo que os animais normoglicêmicos. Esse achado corrobora com estudos anteriores que demonstram que pacientes diabéticos apresentam condições periodontais piores que pacientes sistemicamente saudáveis (Nascimento et al., 2018). A hiperglicemia resulta no aumento da concentração da glicose circulante que associa-se a proteínas formando complexos que estão relacionados com sua patogênese (Farr & Khosla, 2016; Graves et al., 2020). Esses complexos denominados de produtos terminais da glicação avançada (Ages) estimula a superexpressão de mediadores biológicos da inflamação por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e osteoblastos (Chang et al., 2013; Graves et al., 2020). Esses mediadores, tais como o fator de necrose tumoral alfa, prostaglandinas E2, interleucina-1beta, interleucina-6, interleucina-17 estimulam a osteoclastogênese que conseqüentemente resultará no aumento da reabsorção óssea (Calle & Fernandez, 2012; Kasperk et al., 2017).

A utilização da laserterapia em baixa intensidade com duplo comprimento de onda beneficiou a formação de tecido ósseo e melhorou a microestrutura óssea (com aumento da espessura de trabéculas e redução do espaço entre as mesmas) especialmente em animais hiperglicêmicos. Esses resultados animadores podem ter ocorrido devido a associação de ambos os comprimentos de onda que foi suficiente para promover esses efeitos em apenas

uma única sessão. Esse de fato é o achado mais importante desse estudo, pois, apesar da laserterapia já ter sido demonstrada anteriormente como efetiva no tratamento da doença periodontal (Betsy et al., 2014; Gandhi et al., 2019), o laser vermelho (600-700nm) que apresenta maior poder de absorção de sua energia nas camadas de tecido mais superficiais, necessitaria da utilização adjunta de fotossensibilizador, enquanto que o laser infra-vermelho (700-900 nm) que tem maior poder de penetrabilidade tecidual necessitaria de maior quantidade de sessões para demonstrar algum efeito sobre o tecido ósseo (Obradovic et al., 2009; Oliveira et al., 2018). A associação dos dois comprimentos de onda pode eliminar a necessidade de aplicação do laser em várias sessões bem como a utilização de fotossensibilizadores. De fato, um estudo clínico no qual foi comparado a aplicação do laser com duplo comprimento de onda no tratamento da doença periodontal com ou sem a associação de um fotossensibilizador demonstrou não haver diferenças no resultado do tratamento da doença periodontal entre os grupos (Engel Naves Freire et al., 2020).

Algumas propriedades dos lasers de baixa intensidade podem explicar os achados desse estudo. O efeito antimicrobiano encontrado especialmente devido à aplicação da luz vermelha (Prates et al., 2007; Park et al., 2019) pode ter contribuído para redução da carga bacteriana de forma mais rápida após a remoção da ligadura. Além disso, a ação de estimulação da resposta proliferativa local nos tecidos conjuntivos devido à aplicação da luz infravermelha (Rochkind et al., 2004; Oliveira et al., 2018) pode ter melhorado o perfil inflamatório e ter auxiliado na modificação do biofilme dentário desbiótico. Esses achados serão melhores compreendidos após a execução das análises de estereometria para avaliação do componente do infiltrado inflamatório nos tecidos periodontais que ainda serão analisados.

Pacientes com fatores de risco se beneficiam de forma mais impactante com tratamentos adjuntos da doença periodontal do que pacientes sistemicamente saudáveis (Garcia et al., 2018; Elsadek et al., 2020). Estudos prévios que utilizaram a antibioticoterapia como auxiliares no tratamento periodontal demonstraram que pacientes diabéticos e fumantes apresentam maiores vantagens ao serem submetidos a antibioticoterapia (Matarazzo et al., 2008; Miranda et al., 2014). Os achados de nosso estudo corroboram com essa

informação, pois a laserterapia em baixa intensidade de fato beneficiou a formação óssea de forma mais impactante em animais hiperglicêmicos. Esses achados podem ser justificados devido a modificação local do hospedeiro em consequência ao efeito da luz em estimular processos proliferativos e reduzir processos inflamatórios, que ocorrem de forma mais forte em condições de hiperglicemia.

Esse estudo apresenta como limitações a ausência das análises histológicas e a comparação com os lasers de luz vermelha e infravermelha de forma isolada. Ambos esses experimentos estão em fase de andamento e essas informações a serem geradas nos fornecerão uma melhor noção sobre o protocolo que poderá ser aplicado futuramente para tratar a doença periodontal em humanos. Além disso, a comparação do tratamento adjunto da doença periodontal proposto nesse estudo (Laserterapia em baixa intensidade com duplo comprimento de onda) precisará ser comparado com outros tratamentos adjuntos previamente indicados no tratamento das periodontites (eg. Antibioticoterapia).

Conclusão

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo evidenciam que os animais hiperglicêmicos estão mais susceptíveis a desenvolver uma doença periodontal mais severa, em relação aos animais normoglicêmicos. Além disso, evidenciou que para o tratamento dessa enfermidade, quando utilizamos tratamento adjunto de laserterapia em baixa intensidade com laser infra-vermelho e laser vermelho nota-se um melhor reparo ósseo comparado aos animais com tratamento periodontal sem tratamento adjunto.

Referências

Referências

- 1) Kurgan S, Kantarci A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol 2000*. 2018 Feb;76(1):51-67.
- 2) Lee CT, Huang HY, Sun TC, Karimbux N. Impact of Patient Compliance on Tooth Loss during Supportive Periodontal Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res*. 2015 Jun;94(6):777-86.
- 3) Johnson GK, Guthmiller JM. The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol 2000*. 2007;44:178-94.
- 4) Farr JN, Khosla S. Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in humans. *Bone*. 2016 Jan;82:28-34.
- 5) Rhee SY, Kim YS. The Role of Advanced Glycation End Products in Diabetic Vascular Complications. *Diabetes Metab J*. 2018 Jun;42(3):188-195.
- 6) Karim L, Bouxsein ML. Effect of type 2 diabetes-related non-enzymatic glycation on bone biomechanical properties. *Bone*. 2016 Jan; 82: 21-7.
- 7) Chang PC, Chien LY, Yeo JF, Wang YP, Chung MC, Chong LY, Kuo MY, Chen CH, Chiang HC, Ng BN, Lee QQ, Phay YK, Ng JR, Erk KY. Progression of periodontal destruction and the roles of advanced glycation end products in experimental diabetes. *J Periodontol*. 2013 Mar;84(3):379-88.
- 8) D'Aiuto F, Gable D, Syed Z, Allen Y, Wanyonyi KL, White S, Gallagher JE. Evidence summary: The relationship between oral diseases and diabetes. *Br Dent J*. 2017 Jun 23;222(12):944-948.
- 9) Plessas A, Robertson DP, Hodge PJ. Radiographic bone loss in a Scottish non-smoking Type 1 Diabetes mellitus population; a Bitewing Radiographic

Study. *J Periodontol*. 2018 May 15. doi: 10.1002/JPER.16-0788. [Epub ahead of print]

- 10) Patel MH, Kumar JV, Moss ME. Diabetes and tooth loss: an analysis of data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2004. *J Am Dent Assoc*. 2013 May;144(5):478-85.
- 11) Cobb CM. Lasers and the treatment of periodontitis: the essence and the noise. *Periodontol 2000*. 2017 Oct;75(1):205-295.
- 12) Passanezi E, Damante CA, de Rezende ML, Greggi SL. Lasers in periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2015 Feb;67(1):268-91.
- 13) Cunha CB, Eduardo FP, Zezell DM, Bezinelli LM, Shitara PP, Correa L. Effect of irradiation with red and infrared laser in the treatment of oral mucositis: a pilot study with patients undergoing chemotherapy with 5-FU. *Lasers Med Sci*. 2012 Nov;27(6):1233-40.
- 14) Freddo AL, Rodrigo SM, Massotti FP, Etges A, de Oliveira MG. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. *Lasers Med Sci*. 2009 Sep;24(5):721-8.
- 15) Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Aug;18(4):517-24.
- 16) Garcia VG, Sahyon AS, Longo M, Fernandes LA, Gualberto Junior EC, Novaes VC, Ervolino E, de Almeida JM, Theodoro LH. Effect of LLLT on autogenous bone grafts in the repair of critical size defects in the calvaria of immunosuppressed rats. *J Craniomaxillofac Surg*. 2014 Oct;42(7):1196-202.

- 17) Garcia VG, Gualberto EC Júnior, Ervolino E, Nagata MJH, de Almeida JM, Theodoro LH. aPDT for periodontitis treatment in ovariectomized rats under systemic nicotine. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018 Jun;22:70-78.
- 18) Nascimento GG, Leite FRM, Vestergaard P, Scheutz F, López R. Does diabetes increase the risk of periodontitis? A systematic review and meta-regression analysis of longitudinal prospective studies. *Acta Diabetol.* 2018 Jul;55(7):653-667.
- 19) Graves DT, Ding Z, Yang Y. The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2020 Feb;82(1):214-224.
- 20) Calle MC, Fernandez ML. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2012 Jun;38(3):183-91.
- 21) Kasperk C, Georgescu C, Nawroth P. Diabetes Mellitus and Bone Metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017 Apr;125(4):213-217.
- 22) 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. *J Clin Periodontol.* 2014 Jun;41(6):573-81. doi: 10.1111/jcpe.12249. Epub 2014 Apr 10. PMID: 24617449.
- 23) Gandhi KK, Pavaskar R, Cappetta EG, Drew HJ. Effectiveness of Adjunctive Use of Low-Level Laser Therapy and Photodynamic Therapy After Scaling and Root Planing in Patients with Chronic Periodontitis. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2019 Nov/Dec;39(6):837-843. doi: 10.11607/prd.4252. PMID: 31613945.

- 24) Obradovic RR, Kesic LG, Pesevska S. Influence of low-level laser therapy on biomaterial osseointegration: A mini-review. *Lasers Med Sci* 2009;24:447–451.
- 25) de Oliveira GJPL, Aroni MAT, Medeiros MC, Marcantonio E Jr, Marcantonio RAC. Effect of low-level laser therapy on the healing of sites grafted with coagulum, deproteinized bovine bone, and biphasic ceramic made of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate. In vivo study in rats. *Lasers Surg Med*. 2018 Jan 13. doi: 10.1002/lsm.22787. Epub ahead of print. PMID: 29331041.
- 26) Engel Naves Freire A, Macedo Iunes Carrera T, de Oliveira GJPL, Pigossi SC, Vital Ribeiro Júnior N. Comparison between Antimicrobial Photodynamic Therapy and Low-level laser therapy on non-surgical periodontal treatment: A Clinical Study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Sep;31:101756.
- 27) Prates RA, Yamada AM Jr, Suzuki LC, Eiko Hashimoto MC, Cai S, Gouw-Soares S, Gomes L, Ribeiro MS. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Photochem Photobiol B*. 2007 Jan 3;86(1):70-6. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2006.07.010. Epub 2006 Sep 18. PMID: 16979345.
- 28) Park D, Choi EJ, Weon KY, Lee W, Lee SH, Choi JS, Park GH, Lee B, Byun MR, Baek K, Choi JW. Non-Invasive Photodynamic Therapy against - Periodontitis-causing Bacteria. *Sci Rep*. 2019 Jun 3;9(1):8248. doi: 10.1038/s41598-019-44498-4. PMID: 31160615; PMCID: PMC6546788.
- 29) Rochkind S, Kogan G, Luger EG, Salame K, Karp E, Graif M, Weiss J. Molecular structure of the bony tissue after experimental trauma to the

mandibular region followed by laser therapy. *Photomed Laser Surg.* 2004 Jun;22(3):249-53. doi: 10.1089/1549541041438579. PMID: 15315733.

- 30) Elsadek MF, Ahmed BM, Alkhawtani DM, Zia Siddiqui A. A comparative clinical, microbiological and glycemic analysis of photodynamic therapy and *Lactobacillus reuteri* in the treatment of chronic periodontitis in type-2 diabetes mellitus patients. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Mar;29:101629. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.101629. Epub 2019 Dec 20. PMID: 31870899.
- 31) Matarazzo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M. Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2008 Oct;35(10):885-96. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01304.x. Epub 2008 Aug 24. PMID: 18727657.
- 32) Miranda TS, Feres M, Perez-Chaparro PJ, Faveri M, Figueiredo LC, Tamashiro NS, Bastos MF, Duarte PM. Metronidazole and amoxicillin as adjuncts to scaling and root planing for the treatment of type 2 diabetic subjects with periodontitis: 1-year outcomes of a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2014 Sep;41(9):890-9. doi: 10.1111/jcpe.12282. Epub 2014 Jul 17. PMID: 24930639.