



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



AMANDA COSTA BASTOS

6

**EFEITO DO LASER VERMELHO NO TRATAMENTO DA
PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM ANIMAIS
HIPERGLICÊMICOS.**

UBERLÂNDIA

2022

AMANDA COSTA BASTOS

**EFEITO DO LASER VERMELHO NO TRATAMENTO DA
PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM ANIMAIS
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

UBERLÂNDIA

2022

AMANDA COSTA BASTOS

**EFEITO DO LASER VERMELHO NO TRATAMENTO DA
PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM ANIMAIS
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

BANCA EXAMINADORA

PROFº DRº GUILHERME JOSÉ PIMENTEL LOPES DE OLIVEIRA

PROFº DRº ROBERTO BERNARDINO JUNIOR

PROFª DRª SUZANE CRISTINA PIGOSSI

UBERLÂNDIA

2022

RESUMO

A doença periodontal se caracteriza por ser uma doença inflamatória induzida por microrganismos organizados em um biofilme. A Laserterapia tem sido indicada como uma boa alternativa a terapia adjunta para tratamento da doença periodontal associado ou não a um fotossensibilizador. O objetivo desse estudo foi comparar o efeito da Laserterapia em baixa intensidade vermelho no reparo periodontal após tratamento da periodontite induzida em ratos normo- e hiperglicêmicos. Foram utilizados 32 ratos alocados 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 + Remoção da ligadura; RL-N: Animais normoglicêmicos + Remoção da ligadura + Irradiação com laser vermelho; CTR-H: Animais hiperglicêmicos + Remoção da ligadura; RL-H: Animais hiperglicêmicos + Remoção da ligadura + Irradiação com laser vermelho. A periodontite foi induzida pela instalação de ligaduras de fios de algodão ao redor do segundo molar superior bilateralmente e será mantida por 7 dias. Após 15 dias da remoção das ligaduras os animais foram eutanasiados e executadas as seguintes análises: 1) Microtomografia para avaliação do volume do tecido mineralizado e da distância da junção cimento-esmalte ao topo da crista óssea ao redor do segundo molar superior; 2) Histometria para avaliação da composição do infiltrado inflamatório associado ao periodonto (Matriz, vasos, células inflamatórias). A partir das análises realizadas foi observado que, na análise microtomográfica, o grupo CTR/H apresentou maiores distâncias do topo da crista óssea a junção cimento-esmalte (JCE-CO) e menores volumes de tecido ósseo que os outros grupos ($p < 0.05$). Além disso, na análise estereométrica, houve maior quantidade de infiltrado inflamatório e menores quantidades de matriz de tecido conjuntivo no grupo CTR/H em relação aos outros grupos ($p < 0.05$). Conclui-se, então, que a laserterapia melhora a cicatrização periodontal em animais hiperglicêmicos que foram submetidos a periodontite experimental.

Palavras-Chave: Terapia a Laser, Periodontite, Hiperglicemia.

ABSTRACT

Periodontal disease is characterized as an inflammatory disease induced by microorganisms organized in a biofilm. Laser therapy has been indicated as a good alternative to adjunctive therapy for the treatment of periodontal disease with or without a photosensitizer. The aim of this study was to compare the effect of low-intensity red laser therapy on periodontal repair after treatment of induced periodontitis in normo- and hyperglycemic rats. 32 rats were allocated into 4 groups of 8 animals each according to the systemic condition and the type of treatment the animals were submitted to: CTR-N: Normoglycemic animals + Ligation removal; RL-N: Normoglycemic animals + Ligature removal + Red laser irradiation; CTR-H: Hyperglycemic animals + Ligation removal; RL-H: Hyperglycemic animals + Ligature removal + Red laser irradiation. Periodontitis was induced by installing cotton thread ligatures around the upper second molar bilaterally and will be maintained for 7 days. Fifteen days after the ligatures were removed, the animals were euthanized and the following analyzes were performed: 1) Microtomography to assess the volume of the mineralized tissue and the distance from the cemento-enamel junction to the top of the bone crest around the upper second molar; 2) Histometry to evaluate the composition of the inflammatory infiltrate associated with the periodontium (Matrix, vessels, inflammatory cells). Based on the analyzes carried out, it was observed that, in the microtomographic analysis, the CTR/H group presented greater distances from the top of the bone crest to the cemento-enamel junction (CEJ-CO) and smaller volumes of bone tissue than the other groups ($p < 0.05$). Furthermore, in the stereometric analysis, there was a greater amount of inflammatory infiltrate and smaller amounts of connective tissue matrix in the CTR/H group compared to the other groups ($p < 0.05$). It is concluded, then, that laser therapy improves periodontal healing in hyperglycemic animals that were submitted to experimental periodontitis.

Key words: Laser Therapy, Periodontitis, Hyperglycemia.

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	07
2.	Proposição.....	09
3.	Materiais e Métodos.....	10
	3.1. Animais e Grupos.....	10
	3.2. Indução da hiperglicemia.....	10
	3.3. Indução da doença periodontal.....	11
	3.4. Irradiação com Laser de Baixa intensidade vermelho.....	11
	3.5. Obtenção das peças cirúrgicas	12
	3.6. Análise microtomográfica.....	12
	3.7. Análise Estereométrica.....	12
	3.8. Tamanho da amostra.....	13
	3.9. Análise Estatística.....	14
4.	Resultado.....	15
	4.1. Análise Microtomográfica.....	15
5.	Análise Estereométrica.....	16
6.	Discussão.....	18
7.	Conclusão.....	21
8.	Anexos.....	22
9.	Referências.....	23

INTRODUÇÃO

A doença periodontal se caracteriza por ser uma doença inflamatória induzida por microrganismos organizados em um biofilme (Kinane et al., 2017; Kim et al., 2018). Clinicamente, essa doença apresenta como sinais a presença de inflamação gengival associado a sangramento, perda do suporte periodontal de inserção, que pode, em casos mais severos, levar a perda do elemento dentário (Manresa et al., 2020; Herrera et al., 2022). Entretanto, a susceptibilidade a doença periodontal não ocorre de forma semelhante entre os indivíduos, sendo que apenas uma parcela da população apresenta a doença periodontal na sua versão mais severa (Kulkarni & Kinane, 2014). Fatores de risco como a diabetes mellitus aumenta a susceptibilidade a doença periodontal, e, de fato, pacientes portadores dessa doença também apresentam clinicamente maior prevalência e severidade das doenças Periodontais (Kocher et al., 2018; Genco & Sanz, 2020).

O tratamento periodontal tradicionalmente consiste no controle da microbiota periodontal por meio de procedimentos mecânicos como a raspagem e o alisamento radicular (Herrera et al., 2022) e apresentam bons resultados no controle dessa doença na maioria dos casos (Kinane et al., 2017). Porém, pacientes portadores de fatores de risco, tais como em diabéticos, apresentam resultados clínicos mais pobres comparados a uma população que não apresenta outros fatores de risco associados a doença periodontal (Javed et al., 2015). Tratamento adjuntos tem sido proposto como forma de melhorar a resposta ao tratamento não-cirúrgico da doença periodontal. Algumas terapias foram anteriormente propostas tais como a aplicação de antibioticoterapia (Pretzl et al., 2019), e modulação da resposta do hospedeiro (Donos et al., 2020). A utilização dos antibióticos tem como base científica o fato da doença periodontal ser induzida por bactérias, e de fato, essa terapia tem apresentado bons resultados, porém a possibilidade de resistência microbiana a esses fármacos, bem como os seus efeitos colaterais demonstram a necessidade para outras alternativas terapêuticas (Ramich et al., 2015; Pretzl et al., 2019). Como a destruição periodontal é altamente dependente da resposta do hospedeiro, a utilização de moduladores da

resposta do hospedeiro pode, pelo menos teoricamente, ser uma alternativa de tratamento adjunto de doença periodontal (Golub & Lee, 2020). Porém, questões relacionadas a segurança e efeitos colaterais dessas terapias são fatores de dificultam a aplicabilidade clínicas desses agentes (Hajishengallis et al., 2020).

Nesse contexto, a fotobiomodulação (PBMT) tem sido indicada como uma boa alternativa a terapia adjunta para tratamento da doença periodontal associado ou não a um fotossensibilizador (Engel Naves Freira et al., 2020; Zhao et a., 2020). Estudos anteriores vêm demonstrando consistentemente que a PBMT apresenta eficácia semelhante a antibioticoterapia quando utilizada de forma adjunta ao tratamento da doença periodontal, porém, sem as desvantagens relacionada a utilização dos antibióticos para essa finalidade (Ai et al., 2021). Apesar de ser um tratamento promissor, algumas questões ainda requerem maiores investigações, tais como se esse tipo de tratamento poderia beneficiar pacientes diabéticos.

PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo é de avaliar se a associação da PBMT em baixa intensidade com laser vermelho no reparo periodontal após tratamento da periodontite induzida em ratos normo - e hiperglicêmicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi submetido e aprovado junto ao Comitê de ética de utilização de animais da Universidade Federal de Uberlândia – UFU (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; RL-N: Animais normoglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura associado a irradiação do laser vermelho; CTR-H: Animais hiperglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura; RL-H: Animais hiperglicêmicos submetidos a tratamento da periodontite experimental por remoção da ligadura associado a irradiação do laser vermelho.

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 do nível glicêmico foram realizadas semanalmente durante todo experimento. 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, nº24) 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.

Irradiação com Laser de Baixa intensidade vermelho

O laser de GaAlAs (Therapy EC, λ 660nm, 35mW, ϕ ~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 transcirúrgico em cada um dos pontos de irradiação, por 30 segundos em cada ponto, totalizando 120 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/dente. 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 direitas 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 estereométrica.

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). O volume do tecido ósseo entre as raízes do segundo molar superior foi mensurado após delimitação da região de interesse (ROI) que apresentou uma área retangular que mediu 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. Além disso, foram mensurados parâmetros microestruturais do tecido ósseo tais como a espessura de trabéculas (Tb.Th), espaço de trabéculas (Tb.Sp) e número de trabéculas (Tb.N). A seleção do ROI foi realizada por um examinador cego, treinado e calibrado. Por fim, análise lineares da distância da junção cimento-esmalte (JCE) ao topo da crista óssea (CO) foram executadas ao redor do dente em 6 pontos (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-palatino, palatino e disto-palatino).

Análise Estereométrica

Após inclusão das amostras em parafina e obtenção dos cortes histológicos que foram posteriormente corados pela técnicas de Hematoxilina-Eosina, as lâminas foram escaneadas por meio de um scanner (ScanScope AT Turbo, Excilone, Élancourt, França) no aumento de 200X, e foram analisadas por meio de um software de análise de imagens (Aperio ImageScope, Leica Biosystems, Nußloch, Alemanha). Um total de 3 cortes foi avaliado por dente sendo que esses cortes foram captados com intervalos de 50 μ m entre si com o objetivo de se obter em 300 μ m de extensão, áreas representativas das porções proximais do dente.

A técnica estereométrica de contagem de pontos foi empregada nos cortes corados com H/E para avaliação da proporção de componentes teciduais coincidentes com os pontos de intersecção, em um plano bidimensional. Este procedimento permitiu a avaliação quantitativa do quadro inflamatório nas proximidades da agressão. Dessa forma, foi determinada a densidade volumétrica relativa (ou proporção) dos seguintes componentes teciduais: fibras colágenas, fibroblastos, células inflamatórias e vasos sanguíneos. A área de avaliação foi no tecido conjuntivo subjacente ao sulco gengival, junto à base do epitélio juncional, nas faces proximais do segundo molar superior. A quantificação foi executada com o auxílio de grade confeccionada com 32400 μ m² de área. Esta grade foi sobreposta as duas regiões de interesse da imagem. Para cada grade, foram contados 100 pontos de intersecção das linhas da grade que estavam coincidentes sobre as estruturas histológicas. Em seguida, foi executada uma análise percentual de cada componente tecidual em relação ao número total de pontos da grade.

Tamanho da amostra

A variável primária desse estudo foi o volume de tecido ósseo dentro do ROI que foi avaliado por análise microtomográfica. Foi utilizado os dados de volume de tecidos mineralizados do estudo de Oliveira et al. 2016 que utilizou um modelo semelhante ao proposto 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 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 8 (San Diego, CA, USA) foi utilizado para aplicação dos testes estatísticos. Os dados obtidos pelas análises microtomográfica e estereométrica foram numéricos e tiveram sua distribuição normal confirmada pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Devido a isso, os dados dos diferentes grupos 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% ($p < 0.05$).

RESULTADO

Como resultado temos as seguintes análises:

Análise microtomográfica

Foi verificado que o grupo CTR/H apresentou maiores distancias do topo da crista óssea a junção cimento-esmalte (JCE-CO) e menores volumes de tecido ósseo que os outros grupos ($p < 0.05$). Também foi observado que o grupo CTR/H apresentou maior espaço entre as trabéculas e menor número dessas estruturas em relação aos outros grupos. Os dados de média e desvio padrão dos dados obtidos pela análise microtomográfica estão expostos na tabela 1.

Grupo Parâmetro	JCE/CO(mm)	BV/TV(%)	Tb.Th(mm)	Tb.Sp(mm)	Tb.N (1/mm)
CTR/N	531.5 ± 40.36	50.94 ±	11.89 ±	10.41 ±	0.048 ±
		3.79	1.89	1.01	0.003
RL/N	515.4 ± 66.01	54.72 ±	12.39 ±	10.35 ±	0.048 ±
		3.32	1.28	1.43	0.002
CTR/H	905.0 ±	39.08 ±	10.07 ±	21.62 ±	0.031 ±
	203.8*	10.14*	1.91	9.82*	0.013*
RL/H	606.1 ± 141.0	55.53 ±	11.73 ±	11.14 ±	0.049 ±
		5.99	1.94	5.84	0.009

Tabela 1: Média e desvio padrão dos dados obtidos pela análise microtomográfica. * $p < 0.05$. Valores diferentes estatisticamente dos grupos

CTR/N, RL/N e RL/H. Teste de One-way anova complementado pelo teste de Tukey.

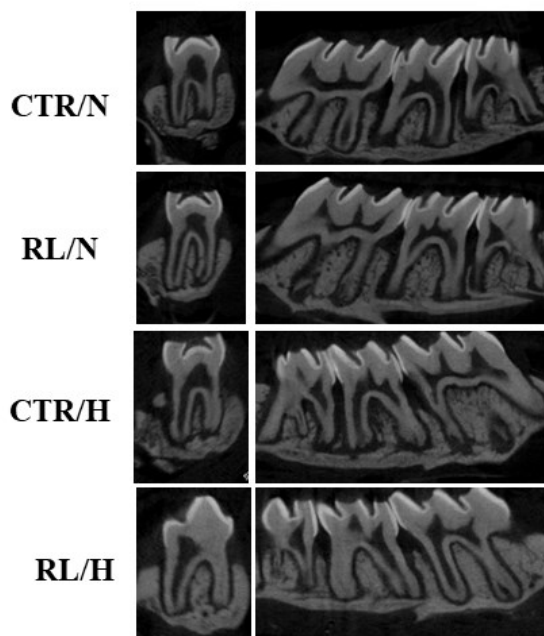


Figura 1; expõe as imagens representativas de todos os grupos provenientes da análise microtomográfica.

Análise estereométrica

Foi observado maior quantidade de infiltrado inflamatório e menores quantidades de matriz de tecido conjuntivo no grupo CTR/H em relação aos outros grupos ($p < 0.05$). Os dados de média e desvio padrão dos dados obtidos pela análise estereométrica estão expostos na tabela 2. A figura 2 expõe as imagens histológicas representativas de todos os grupos:

Grupo/Parâmetro	Células Inflamatórias	Vasos Sanguíneos	Fibroblastos	Matriz
CTR/N	12.07±6.14	8.71±4.82	12.57±3.40	66.65±14.50
RL/N	17.00±9.20	14.25±7.96	12.29±5.34	56.46±16.31
CTR/H	38.45±12.52*	20.57±9.77	8.43±7.36	32.55±8.93*
RL/H	18.30±8.26	15.25±9.88	13.65±7.88	52.80±10.32

Tabela 2: Média e desvio padrão dos dados obtidos pela análise estereométrica. * $p < 0.05$. Valores diferentes estatisticamente dos grupos CTR/N, RL/N e RL/H. Teste de One-way anova complementado pelo teste de Tukey.

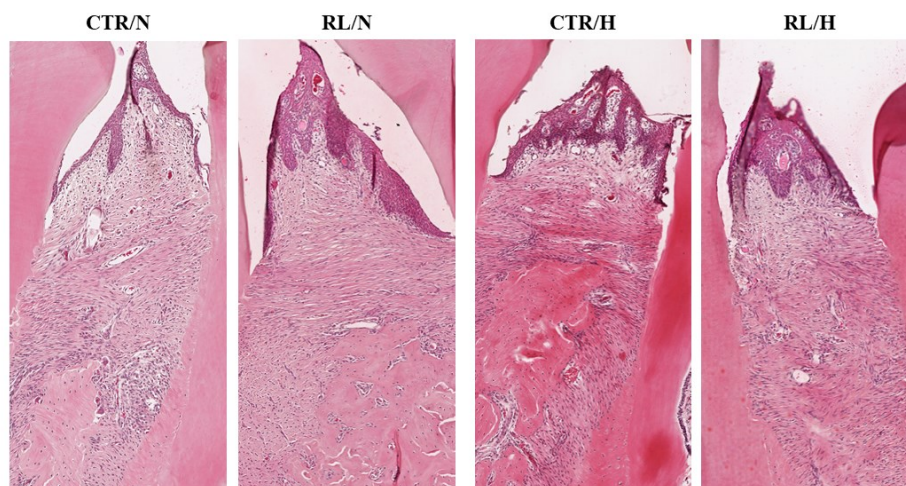


Figura 2: Imagens histológicas representativas de todos os grupos onde é possível notar maior infiltrado inflamatório ao redor dos segundos molares do grupo CRT/H. (Aumento 100X – Coloração HE).

DISCUSSÃO

A diabetes mellitus é uma doença de alta prevalência que está relacionada a desordens no metabolismo dos carboidratos devido à ausência ou ineficiência da insulina em cumprir suas funções a contento (Graves et al., 2020). A doença periodontal ocorre de forma mais severa em portadores dessa doença, e, frequentemente, o tratamento periodontal não-cirúrgico isolado não é eficaz na resolução dessa patologia (Javed et al., 2015; Konane et al., 2017). A proposta desse estudo foi de testar se a PBMT com luz vermelha sem fotossensibilizadores poderia ser benéfica na cicatrização periodontal em animais hiperglicêmicos. De fato, nesse estudo, a PBMT igualou o processo de cicatrização entre animais hiperglicêmicos e normoglicêmicos, tendo melhorado a cicatrização em relação ao grupo controle sem tratamento adjunto da periodontite experimental. Dessa forma, a hipótese alternativa desse estudo foi aceita.

Foi observado nesse estudo que os animais hiperglicêmicos apresentaram processo inflamatório mais exuberante, maior perda óssea e estrutura óssea mais pobre do que os animais normoglicêmicos. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores que demonstraram que a diabetes mellitus é um fator de risco para ocorrência e progressão da doença periodontal (Costa et al., 2013; Kocher et al., 2018). Esses achados podem ser explicados devido a expressão dos produtos terminais da glicação avançada (AGEs) em situações de hiperglicemia, sendo que esses produtos são o resultado da ligação da glicose de forma irreversível com uma gama de proteínas (Chang et al., 2013; Graves et al., 2020). Células inflamatórias apresentaram receptores para esses produtos (RAGES) e a ligação dos mesmos com as AGEs mediam, e essa amplificam suas respostas inflamatórias frente ao desafio microbiano, como ocorre na doença periodontal e outras doenças crônicas (Luong et al., 2021). Isso ocorre basicamente porque as células, como macrófagos, fibroblastos e endoteliais, quando ativadas pelos AGEs, produzem maior quantidade de citocinas como IL-1 (interleucina 1), IL-6 (interleucina 6) e TNF- α (fator de necrose tumoral alfa), além de enzimas como as MMPs (metaloproteinases de matriz), responsáveis

pela reabsorção óssea (Graves et al., 2020; Altıngöz et al., 2021). A interação AGE-RAGE afeta negativamente o fenótipo celular e a função das células, levando à inflamação aumentada, produção de espécies reativas de oxigênio ou stress oxidativo e a capacidade de renovação tecidual (Graves et al., 2020; Luong et al., 2021).

Notou-se que o PBMT com a luz vermelha provocou redução da inflamação e que isso consequentemente influenciou na redução da perda óssea e na melhor microestrutura desse tecido. Esses efeitos podem ter ocorrido devido a inibição da expressão de mediadores biológicos da inflamação, tais como citocinas e metabólitos do ácido araquidônico por meio do seu efeito de biomodulação (Wang et al., 2022). Esse efeito ocorre ao aumento da quantidade de ATP, aceleração das mitoses, ao efeito no equilíbrio do potencial da membrana, melhora a reparação tecidual, estímulo a regeneração do tecido ósseo e equilíbrio da produção de fibroblastos, com normalização no depósito de fibras colágenas e elásticas no tecido em reparação (Taradaj et al., 2018; Wang et al., 2019; Wang et al., 2022).

A redução da microcirculação periférica, dos níveis de pressão de O₂, da proliferação celular e da resposta imune são condições observadas em diabéticos. Isso explica o fato dos animais hiperglicêmicos terem sido beneficiados pelo uso do laser de baixa potência, já que o laser promove uma redução significativa na inflamação melhorando a circulação e induzindo diferenciações celulares por mecanismos já descritos (Taradaj et al., 2018; Wang et al., 2019).

Um fato importante nesse estudo foi a não utilização de agentes fotossensibilizadores associados a PBMT com a luz vermelha. De fato, a terapia fotodinâmica tem sido descrita como eficiente no tratamento adjunto da doença periodontal, entretanto, também tem sido demonstrado que o uso de fotossensibilizadores não adiciona benefícios clínicos ao tratamento periodontal (Engel Naves Freire et al., 2020). É provável que o efeito da PBMT seja mais relacionado a modulação local da inflamação do que o seu efeito antimicrobiano, até porque a modificação do perfil inflamatório tem sido relatada com um dos fatores mais importantes da composição da microbiota periodontal, e, como consequência da redução da inflamação induzida pela

PBMT, a microbiota poderá apresentar perfil menos patogênico. Essa hipótese necessitará ser testada futuramente.

Clinicamente, o paciente diabético necessita de terapia adjunta mais do que o paciente saudável. Tradicionalmente, essa terapia adjunta se dá por meio da antibioticoterapia, porém a utilização desta pode apresentar efeitos adversos como problemas gastrointestinais e a possibilidade de resistência bacteriana. A PBMT com luz vermelha poderia clinicamente ser uma terapia adjunta mais interessante do que a antibioticoterapia por ser uma terapia local que eliminaria, pelo menos teoricamente, o risco de complicação sistêmica nos pacientes. Porém, o fato desse estudo ter sido executado em animais que tiveram sua hiperglicemia induzida por um modelo experimental que mimetiza o diabetes tipo 1, bem como não houve tentativa de controle dessa hiperglicemia, limitam a validade externa dos achados do nosso estudo. Dessa forma, a condução de ensaios clínicos numa população com diferentes tipos de diabetes, que sejam submetidos a terapêutica de controle do diabetes, fornecerá uma informação mais precisa sobre os supostos efeitos benéficos da PBMT com luz vermelha no tratamento da doença periodontal nos pacientes de risco.

CONCLUSÃO

Dessa forma, pode-se concluir que a PBMT com laser vermelho melhora a cicatrização periodontal em animais hiperglicêmicos que foram submetidos a periodontite experimental.

ANEXOS



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Efeito da laserterapia em dupla irradiação sobre o tratamento da periodontite experimental em animais normo- e hiperglicêmicos”, protocolo nº 025/19, sob a responsabilidade de **Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **18 de Outubro de 2019**.

(We certify that the project entitled “Efeito da laserterapia em dupla irradiação sobre o tratamento da periodontite experimental em animais normo- e hiperglicêmicos”, protocol 025/19, under the responsibility of **Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of October 18th, 2019).

Vigência do Projeto	Início: 15/01/2020 Término: 15/12/2021
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	<i>Rattusnorvegicus</i> , da linhagem Wistar
Número de animais	84
Peso / Idade	250-300g / 3 meses
Sexo	Machos
Origem / Local	Rede de Biotérios de Roedores da UFU - REBIR-UFU
Local onde serão mantidos os animais:	Rede de Biotérios de Roedores da UFU - REBIR-UFU

Uberlândia, 23 de Outubro de 2019.



Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Comissão de Ética na Utilização de Animais /UFU

Coordenador da CEUA

Portaria Nº 1234 DE 01 DE OUTUBRO DE 2019

REFERÊNCIAS

- 1) Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 22;3:17038. doi: **10.1038/nrdp.2017.38**. PMID: 28805207.
- 2) Kim OS, Shin MH, Kweon SS, Lee YH, Kim OJ, Kim YJ, Chung HJ. The severity of periodontitis and metabolic syndrome in Korean population: The Dong-gu study. *J Periodontal Res*. 2018 Jun;53(3):362-368. doi: **10.1111/jre.12521**. Epub 2017 Dec 10. PMID: 29226321.
- 3) Manresa C, Sanz-Mirallas EC, Twigg J, Bravo M. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jan 1;1(1):CD009376. doi: **10.1002/14651858.CD009376.pub2**. PMID: 29291254; PMCID: PMC6491071.
- 4) Herrera D, Sanz M, Kebschull M, Jepsen S, Sculean A, Berglundh T, Papapanou PN, Chapple I, Tonetti MS; EFP Workshop Participants and Methodological Consultant. Treatment of stage IV periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2022 Jun;49 Suppl 24:4-71. doi: **10.1111/jcpe.13639**. PMID: 35688447.
- 5) Kulkarni C, Kinane DF. Host response in aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014 Jun;65(1):79-91. doi: **10.1111/prd.12017**. PMID: 24738587.
- 6) Kocher T, König J, Borgnakke WS, Pink C, Meisel P. Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus: Epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontol 2000*. 2018 Oct;78(1):59-97. doi: **10.1111/prd.12235**. PMID: 30198134.
- 7) Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontol 2000*. 2020 Jun;83(1):7-13. doi: **10.1111/prd.12344**. PMID: 32385880.
- 8) Javed F, Al Amri MD, Al-Kheraif AA, Qadri T, Ahmed A, Ghanem A, Calvo-Guirado JL, Romanos GE. Efficacy of non-surgical periodontal therapy with adjunct Nd:YAG laser therapy in the treatment of periodontal inflammation among patients with and without type 2

- diabetes mellitus: A short-term pilot study. *J Photochem Photobiol B*. 2015 Aug;149:230-4. **doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.06.013**. Epub 2015 Jun 16. PMID: 26103088.
- 9) Pretzl B, Sälzer S, Ehmke B, Schlagenhauf U, Dannewitz B, Dommisch H, Eickholz P, Jockel-Schneider Y. Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy-a consensus report. *Clin Oral Investig*. 2019 Jul;23(7):3073-3085. **doi: 10.1007/s00784-018-2727-0**. Epub 2018 Oct 29. PMID: 30374830.
- 10) Donos N, Calciolari E, Brusselaers N, Goldoni M, Bostanci N, Belibasakis GN. The adjunctive use of host modulators in non-surgical periodontal therapy. A systematic review of randomized, placebo-controlled clinical studies. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22:199-238. **doi: 10.1111/jcpe.13232**. PMID: 31834951.
- 11) Ramich T, Schacher B, Scharf S, Röllke L, Arndt R, Eickholz P, Nickles K. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy. *Clin Oral Investig*. 2015 Jan;19(1):27-34. **doi: 10.1007/s00784-014-1208-3**. Epub 2014 Feb 20. PMID: 24554003.
- 12) Golub LM, Lee HM. Periodontal therapeutics: Current host-modulation agents and future directions. *Periodontol 2000*. 2020 Feb;82(1):186-204. **doi: 10.1111/prd.12315**. PMID: 31850625; PMCID: PMC6973248.
- 13) Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol 2000*. 2020 Oct;84(1):14-34. **doi: 10.1111/prd.12331**. PMID: 32844416; PMCID: PMC7457922.
- 14) Engel Naves Freire A, Macedo lunes 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. **doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101756**. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32302705.
- 15) Zhao P, Song X, Nie L, Wang Q, Zhang P, Ding Y, Wang Q. Efficacy of adjunctive photodynamic therapy and lasers in the non-surgical

- periodontal treatment: A Bayesian network meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Dec;32:101969. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101969. Epub 2020 Aug 24. PMID: 32846208.
- 16) Ai R, Nie M, Yang J, Deng D. Effects of Antibiotics Versus Repeated Applications of Photodynamic Therapy as an Adjunctive Treatment for Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2021 Mar;39(3):211-220. doi: **10.1089/photob.2020.4917**. Epub 2021 Feb 18. PMID: 33601959.
- 17) Graves DT, Ding Z, Yang Y. The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2020 Feb;82(1):214-224. doi: **10.1111/prd.12318**. PMID: 31850631.
- 18) Costa FO, Miranda Cota LO, Pereira Lages EJ, Soares Dutra Oliveira AM, Dutra Oliveira PA, Cyrino RM, Medeiros Lorentz TC, Cortelli SC, Cortelli JR. Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *J Periodontol.* 2013 May;84(5):595-605. doi: **10.1902/jop.2012.120255**. Epub 2012 Jul 6. PMID: 22769441.
- 19) 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. doi: **10.1902/jop.2012.120076**. Epub 2012 May 3. PMID: 22554295.
- 20) Luong A, Tawfik AN, Islamoglu H, Gobriel HS, Ali N, Ansari P, Shah R, Hung T, Patel T, Henson B, Thankam F, Lewis J, Mintline M, Boehm T, Tumur Z, Seleem D. Periodontitis and diabetes mellitus co-morbidity: A molecular dialogue. *J Oral Biosci.* 2021 Dec;63(4):360-369. doi: **10.1016/j.job.2021.10.006**. Epub 2021 Oct 30. PMID: 34728373.
- 21) Altıngöz SM, Kurgan Ş, Önder C, Serdar MA, Ünlütürk U, Uyanık M, Başkal N, Tatakis DN, Günhan M. Salivary and serum oxidative stress biomarkers and advanced glycation end products in periodontitis patients with or without diabetes: A cross-sectional study. *J Periodontol.* 2021

- Sep;92(9):1274-1285. doi: **10.1002/JPER.20-0406**. Epub 2021 Jan 4. PMID: 33277933.
- 22)Wang L, Liu C, Song Y, Wu F. The effect of low-level laser irradiation on the proliferation, osteogenesis, inflammatory reaction, and oxidative stress of human periodontal ligament stem cells under inflammatory conditions. *Lasers Med Sci*. 2022 Sep 15. doi: **10.1007/s10103-022-03638-5**. Epub ahead of print. PMID: 36104643.
- 23)Taradaj J, Shay B, Dymarek R, Sopel M, Walewicz K, Beeckman D, Schoonhoven L, Gefen A, Rosińczuk J. Effect of laser therapy on expression of angio- and fibrogenic factors, and cytokine concentrations during the healing process of human pressure ulcers. *Int J Med Sci*. 2018 Jul 13;15(11):1105-1112. doi: **10.7150/ijms.25651**. PMID: 30123047; PMCID: PMC6097266.
- 24)Wang L, Wu F, Liu C, Song Y, Guo J, Yang Y, Qiu Y. Low-level laser irradiation modulates the proliferation and the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells under healthy and inflammatory condition. *Lasers Med Sci*. 2019 Feb;34(1):169-178. doi: **10.1007/s10103-018-2673-8**. Epub 2018 Nov 19. PMID: 30456535.