



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS
CIÊNCIAS DA SAÚDE

ELLEN PERIM ROSA DO NASCIMENTO

EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA E DA
RASPAGEM EM ÁREAS DE CRESCIMENTO GENGIVAL PREDISPOSTAS
PELO APARELHO ORTODÔNTICO FIXO EM ADOLESCENTES: ESTUDO
CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO DUPLO-CEGO BOCA DIVIDIDA

São Paulo, SP

2021

ELLEN PERIM ROSA DO NASCIMENTO

**EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA E DA
RASPAGEM EM ÁREAS DE CRESCIMENTO GENGIVAL PREDISPOSTAS
PELO APARELHO ORTODÔNTICO FIXO EM ADOLESCENTES: ESTUDO
CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO DUPLO-CEGO BOCA DIVIDIDA**

Tese apresentada à Universidade Nove de Julho para obtenção do título de Doutora em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana.

São Paulo, SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Nascimento, Ellen Perim Rosa do.

Eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana e da raspagem em áreas de crescimento gengival predispostas pelo aparelho ortodôntico fixo em adolescentes: estudo clínico controlado randomizado duplo-cego boca dividida. / Ellen Perim Rosa do Nascimento. 2021.

78 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2021.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana.

1. Crescimento gengival. 2. Gengivite. 3. Adolescente. 4. Aparelho

São Paulo, 13 de dezembro de 2021.

TERMO DE APROVAÇÃO

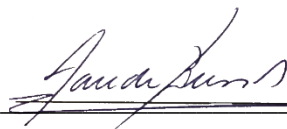
Aluno (a): Ellen Perim Rosa do Nascimento

Título da Tese: “Eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana e da raspagem em áreas de crescimento gengival predispostos pelo aparelho ortodôntico fixo em adolescentes: estudo clínico controlado randomizado duplo-cego boca dividida”.

Presidente: PROF^a. DR^a. ANNA CAROLINA RATTO TEMPESTINI HORLIANA




Membro: PROF^a. DR^a. SANDRA KALIL BUSSADORI



Membro: PROF^a. DR^a. PRISCILA LARCHER LONGO



Membro: PROF^a. DR^a. LARA JANSISKI MOTTA GODINHO



Membro: PROF^a. DR^a. MARCELA LETÍCIA LEAL GONÇALVES



AGRADECIMENTOS

Confesso que este elemento da minha tese foi o último a ser redigido, eu poderia dizer que essas palavras são minhas considerações finais àqueles que tão especialmente fizeram parte desta trajetória.

Primeiramente gostaria de agradecer ao PPG Biofotônica, que me permitiu conhecer e explorar o mundo da pesquisa e a UNINOVE que me abriu as portas há 9 anos, aqui me tornei dentista, mestre e almejo muito em breve o título de doutora.

Aos colegas de doutorado, a maioria deles compartilhou comigo a experiência desde o mestrado e sabem exatamente como me sinto ao escrever os agradecimentos, como foi árduo o caminho e como valeu a pena.

À minha família, que compreendeu cada ausência e nunca deixou de me apoiar, foram muitos almoços de domingo cancelados, viagens adiadas, mas o amor é renúncia também.

À minha amiga Tatiana Andrade, que esteve comigo desde o primeiro paciente que recebeu o tratamento. Este não era um estudo que permitia ser realizado por apenas 1 pesquisador, necessitava do trabalho clínico à 4 mãos. Mesmo sem fazer parte do PPG, ela esteve comigo em todas as consultas, deixou seu consultório e seus pacientes para ajudar uma amiga e por acreditar na pesquisa.

Aos pacientes/ participantes da pesquisa que nobremente contribuem para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas.

Aos membros da banca, por suas considerações tão pertinentes, por doar seu tempo e conhecimento.

Meu agradecimento especial à minha orientadora Anna Carolina Horliana que tão delicadamente me conduziu durante todo o processo, foi paciente e entendeu cada momento. Percebo que é possível ensinar sem perder a doçura e a postura, você é espelho para seus alunos. Minha gratidão por você não cabe nesta página.

Encerro com gratidão à quem ainda nem chegou, o Matheus. Que despertou em mim uma força gigantesca e vai me dar um título tão esperado quanto o de Doutora, o de Mãe.

RESUMO

Sabe-se que a presença de bráquetes ortodônticos predispõe ao acúmulo do biofilme, sendo frequente a presença de crescimento gengival associado ao tratamento ortodôntico em adolescentes. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana (do inglês *Antimicrobial Photodynamic Therapy* – aPDT) como adjuvante à raspagem nos parâmetros clínicos e inflamatórios em adolescentes com crescimento gengival em uso de aparelho fixo, uma vez que o fotossensibilizador e a luz são capazes de atingir áreas de difícil acesso. Neste ensaio clínico randomizado, controlado, duplo-cego e boca dividida foram incluídos 20 participantes que tiveram a boca dividida em: Lado Controle (n=20) – Raspagem + placebo da aPDT e Lado Experimental (n=20) - Raspagem + aPDT. A raspagem foi realizada com auxílio de ultrassom e aPDT com o fotossensibilizador azul de metileno 0,005%, e o laser no $\lambda=660\text{nm}$ e 9J de energia por sítio. Foram analisados os parâmetros clínicos: índice de placa (IP), índice gengival (IG), profundidade de sondagem (PCS) e nível clínico de inserção (NCI). Foi coletado fluído crevicular de 8 sítios para análise das citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-10, pelo método de ELISA. As análises foram realizadas no baseline (T₀) e 30 dias após o tratamento (T₁). Os participantes receberam orientação de higiene oral no T₁. O teste de Kolmogorov-Smirnov avaliou a normalidade das variáveis quantitativas, que foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil e comparadas com o teste de Wilcoxon. Houve melhora nos grupos controle e experimental nas variáveis clínicas em 30 dias, IG ($p<0,001$ e $p=0,001$), PCS ($p=0,001$ e $p=0,001$) e IP ($p=0,001$ e $p=0,002$), sem diferença entre os grupos. A citocina IL-6 esteve reduzida no grupo controle e experimental ($p=0,011$ e $p=0,003$), TNF- α diminuiu valores no grupo experimental em 30 dias ($p=0,001$), com tendência a redução no grupo experimental quando comparado ao controle ($p=0,087$), IL-1 β apresentou diferença entre os grupos ($p=0,034$ e $p=0,008$), mas sem diferença entre T₀ e T₁, não houve diferença nem entre grupos e nem no tempo para IL-10. Conclusão: A aPDT adjuvante a Raspagem e a Raspagem por si só apresentaram eficácia semelhante nos desfechos clínicos e inflamatórios no tratamento do crescimento gengival em adolescentes em uso de aparelho ortodôntico.

Palavras-chave: crescimento gengival, gengivite, adolescente, aparelho ortodôntico, terapia fotodinâmica antimicrobiana, raspagem.

ABSTRACT

It is known that the presence of orthodontic brackets predisposes to the accumulation of biofilm, and the presence of gingival growth associated with orthodontic treatment in adolescents is frequent. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) as an adjunct to scaling in clinical and inflammatory parameters in adolescents with gingival growth using fixed appliances since the photosensitizer and light are capable of reaching areas of difficult access. In this randomized, controlled, double-blind, split-mouth clinical trial, 20 participants were included who had their mouths divided into: Control Side (n=20) – Scaling + aPDT placebo and Experimental Side (n=20) - Scaling + aPDT. Scaling was performed with the aid of an ultrasonic scaler and aPDT with methylene blue photosensitizer 0.005%, and laser at $\lambda=660\text{nm}$ and 9J of energy per site. Clinical parameters were analyzed: plaque index (PI), gingival index (GI), probing depth (PCS), and clinical attachment level (NCI). Crevicular fluid was collected from 8 sites for analysis of the IL-1 β , IL-6, TNF- α , and IL-10 cytokines, using the ELISA method. Analyzes were performed at baseline (T0) and 30 days after treatment (T1). Participants received oral hygiene guidance at T1. The Kolmogorov-Smirnov test assessed the normality of quantitative variables, which were presented as median and interquartile range and compared with the Wilcoxon test. There was an improvement in the control and experimental groups in the clinical variables within 30 days, GA ($p<0.001$ and $p=0.001$), PCS ($p=0.001$ and $p=0.001$), and IP ($p=0.001$ and $p=0.002$), with no difference between the groups. The IL-6 cytokine was reduced in the control and experimental group ($p=0.011$ and $p=0.003$), TNF- α decreased values in the experimental group in 30 days ($p=0.001$), with a tendency to decrease in the experimental group when compared to the control ($p=0.087$). Final considerations: adjuvant aPDT to scraping and scraping alone showed similar efficacy in clinical and inflammatory outcomes in the treatment of gingival growth in adolescents using orthodontic appliances.

Keywords: gingival growth, gingivitis, adolescent, orthodontic appliance, antimicrobial photodynamic therapy, scaling.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIações

FCG	Fluído Crevicular Gengival
aPDT	<i>Antimicrobial Photodynamic Therapy</i> – Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana
OMS	Organização Mundial de Saúde
JEC	Junção Esmalte-Cimento
PCS	Profundidade Clínica de Sondagem
IG	Índice Gengival
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> - Ensaio Imunoabsorvente Enzimático
IL	Interleucinas
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> - Fator de Necrose Tumoral Alfa
OHB	Orientação de Higiene Bucal
LASER	<i>Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation</i> – Amplificação de Luz pela Emissão Estimulada de Radiação
LED	<i>Light Emitting Diode</i> – Diodo emissor de luz
FS	Fotossensibilizador
EROS	Espécies reativas de oxigênio
CONSORT	<i>Consolidated Standards of Reporting Trials</i> – Padrões Consolidados de Relatórios de Ensaios
UNINOVE	Universidade Nove de Julho
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TA	Termo de Assentimento
CEP	Comitê de ética em pesquisa
NCI	Nível clínico de inserção
CCI	Coeficiente de Correlação Interclasses
Nm	Nanômetros
Mw	miliwatts
cm ²	Centímetro quadrado
S	Segundo
W	Watts
J	Joule

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Periodonto de proteção saudável.....	14
Figura 2.	Diagrama de Jablonski.....	19
Figura 3.	Fluxograma do estudo.....	24
Figura 4.	Desenho experimental grupo controle.....	27
Figura 5.	Desenho experimental grupo experimental.....	28
Figura 6.	Sequência clínica.....	34
Figura 7.	Profundidade clínica de sondagem por sítio.....	40
Figura 8.	Índice gengival.....	40
Figura 9.	Índice de placa.....	41
Figura 10.	Profundidade clínica de sondagem.....	41
Figura 11.	Nível clínico de inserção.....	42
Figura 12.	IL1- β	44
Figura 13.	IL-6.....	44
Figura 14.	TNF- α	45
Figura 15.	IL-10.....	45

LISTA DE TABELAS E QUADRO

Tabela 1.	Dados demográficos e econômicos	36
Tabela 2.	Avaliação da condição sistêmica e medicamentosa.....	37
Tabela 3.	Condição bucal.....	38
Tabela 4.	Parâmetros Clínicos referentes ao Exame Periodontal....	39
Tabela 5.	Citocinas pró-inflamatórias e regulatória.....	43
Quadro 1.	Parâmetros da aPDT.....	33

SUMÁRIO

1.	Contextualização.....	11
1.1	Definição do Problema.....	11
1.2	Prevalência.....	13
1.3	Etiologia.....	13
1.4	Diagnóstico.....	15
1.5	Tratamento.....	17
2.	Justificativa.....	21
3.	Objetivos.....	22
3.1	Objetivo Geral.....	22
3.2	Objetivos Específicos.....	22
4.	Materiais e Métodos.....	23
4.1	Cálculo do tamanho da amostra.....	25
4.2	Descrição da amostra.....	25
4.3	Critérios de inclusão/ exclusão.....	25
4.4	Calibração do pesquisador.....	26
4.5	Aleatorização.....	26
4.6	Cegamento do estudo.....	27
4.7	Desenho Experimental.....	27
4.8	Variáveis do estudo.....	28
4.9	Avaliações Pré-tratamento.....	29
4.10	Anamnese.....	29
4.11	Avaliação clínica do sangramento gengival.....	29
4.12	Exame clínico periodontal.....	30
4.13	Citocinas do fluido crevicular gengival.....	30
4.14	Tratamento periodontal.....	31
4.15	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana.....	31
4.16	Sequência dos procedimentos clínicos.....	32
4.17	Orientação de higiene bucal.....	34
4.18	Análise estatística.....	35
5.	Resultados.....	35
6.	Discussão.....	46
7.	Conclusão.....	54
8.	Anexos.....	62
8.1	Parecer consubstanciado.....	62
8.2	TCLE.....	68
8.3	TA.....	72
8.4	Anamnese.....	75
8.5	Exame Periodontal.....	77
8.6	Protocolo MEDICINE.....	78

1 Contextualização

1.1 Definição do Problema

O tratamento ortodôntico tem benefícios na recuperação de estética e função, entretanto, a presença de dispositivos ortodônticos como bráquetes e bandas, facilitam o acúmulo de biofilme. (Pachevska *et al.*, 2019; Gómez *et al.* 2018; Pan *et al.*, 2017; Bonetti *et al.*, 2014; Folco *et al.*, 2014)

Ao adicionar os dispositivos ortodônticos que facilitam o acúmulo de biofilme temos um desafio na manutenção da saúde periodontal, principalmente porque a maior parte dos pacientes que realizam a ortodontia fixa é composta por adolescentes com dificuldade em realizar a higiene oral adequadamente. (Le Fouler *et al.*, 2021; Pinto *et al.*, 2017; Jurišić *et al.* 2018)

Estes dispositivos são retentivos e colaboram para a agregação microbiana, o que faz com que o aparelho fixo seja considerado fator predisponente ao desenvolvimento do processo inflamatório nos tecidos locais e ao crescimento gengival. (Pachevska *et al.*, 2019; Abellán *et al.*, 2019; Vani *et al.*, 2021; Panhóca *et al.*, 2016)

Um dos dispositivos fixos mais retentivos para biofilme e mais utilizados em mecânicas ortodônticas é o bráquete. Com relação ao tipo de bráquete – convencional ou autoligado, há pouca evidência clínica que um influencie mais que o outro nos parâmetros periodontais. (Chhibber *et al.*, 2018; Folco *et al.*, 2014) Entretanto, um estudo refere que o desenho de um dos bráquetes autoligados utilizados afetou mais nos níveis de citocinas pró-inflamatórias no fluido crevicular gengival (FCG) e na adesão microbiológica que o bráquete convencional. (Bergamo *et al.*, 2017) É interessante observar que nos bráquetes convencionais, as ligaduras elastoméricas parecem acumular mais biofilme que as ligaduras metálicas. (Vincent-Bugnas *et al.*, 2021)

Quando se menciona o material utilizado para confecção dos bráquetes - cerâmico ou aço inoxidável, não há consenso sobre qual material acumularia mais microrganismos. (Jurela *et al.*, 2013) Há referência sobre melhores

resultados na saúde periodontal e menor crescimento gengival em pacientes adolescentes em uso de bráquetes cerâmicos. (Jurišić *et al.* 2018; Vincent-Bugnas *et al.*, 2021)

Outro aspecto importante para adesão de biofilme é a resina utilizada em excesso na base do bráquete para colagem. Microscopicamente observa-se que nas áreas da colagem no terço médio da face vestibular da coroa dos dentes existem numerosos sulcos e fissuras, mesmo após a remoção do aparelho ortodôntico. (Bonetti *et al.*, 2014)

A colagem de bráquetes sem excesso de resina associada a bráquetes cerâmicos/ estéticos e ausência de crescimento gengival vão contribuir para que o adolescente se sinta bem durante o tratamento ortodôntico, já que a qualidade de vida relacionada a saúde bucal pode piorar ligeiramente devido a estética do aparelho nesta fase. (Pinto *et al.*, 2017, Jurišić *et al.* 2018)

Para o ortodontista a recuperação da função é um dos principais pontos considerados no restabelecimento da saúde bucal, mas a queixa do paciente também é relevante e em geral a estética é considerada importante na adolescência, implicando em fatores psicológicos e sociais. (Gatto *et al.*, 2019)

Como dito anteriormente, o adolescente tem dificuldade em aderir a higiene oral adequadamente, mesmo que isso implique na perda da estética gengival relacionada ao crescimento. Diante desta problemática prevalente na ortodontia aplicada a hebiatria faz-se necessário testar novas medidas. Medidas terapêuticas que requerem intervenção clínica, com instrumentos (raspagem) e terapias adjuvantes (Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana ou aPDT, do inglês *Antimicrobial Photodynamic Therapy*), bem como medidas que contenham o componente educacional, que dependam da escolha da técnica de comunicação, frequência e natureza de instruções de higiene oral. (Le Fouler *et al.*, 2021; Abbélan *et al.*, 2019; Cerroni *et al.*, 2018; Pinto *et al.*, 2017)

1.2 Prevalência

A ocorrência do crescimento gengival no adolescente parece ser maior em pacientes que fazem uso do aparelho ortodôntico há mais tempo, entre um e três anos. (Pinto *et al.*, 2017)

A prevalência do crescimento gengival em pacientes em uso de aparelho ortodôntico costuma estar relacionada ao sangramento gengival. (Zanatta *et al.*, 2014) Assim, consideram-se importantes os apontamentos epidemiológicos sobre a prevalência do sangramento gengival e condições periodontais.

Na pesquisa nacional de saúde bucal de 2010, levantamento epidemiológico de saúde bucal do Brasil, a prevalência de sangramento gengival aumenta dos 12 anos até a vida adulta, decrescendo nos idosos, que tem maior propensão ao desenvolvimento de cálculo e presença de bolsas. Um quarto dos adolescentes de 12 anos e um terço dos adolescentes entre 15 e 19 anos apresentam sangramento gengival. Chama a atenção o fato de que as condições periodontais são piores na região Norte do que na região Sudeste, que é mais economicamente ativa. (Ministério da Saúde, 2011) Em 2020 foi anunciado o Projeto Técnico do quinto levantamento epidemiológico de saúde bucal do Brasil, o censo será realizado nos anos de 2021 e 2022. (Ministério da Saúde, 2020)

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o grupo de 15 a 19 anos é importantíssimo para avaliação da condição periodontal em adolescentes. (World Health Organization, 2013)

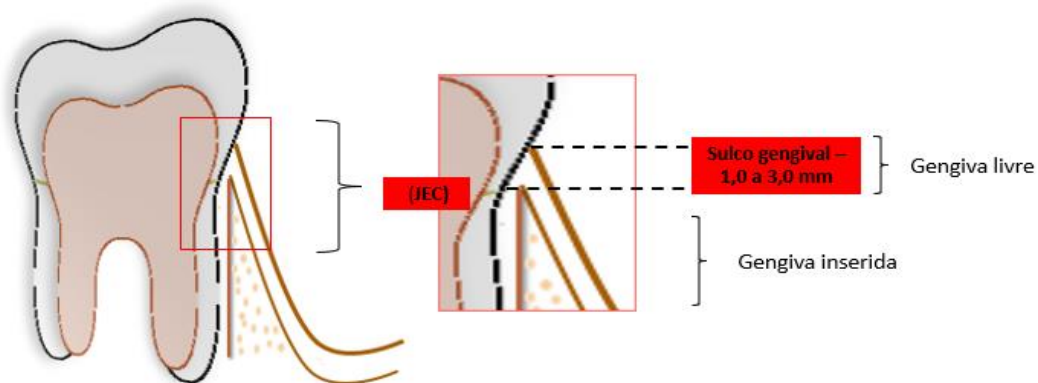
1.3 Etiologia

Ao abordar a etiologia do crescimento gengival associado ao sangramento gengival, é importante primeiramente discorrer sobre a saúde periodontal, que é definida pela ausência de inflamação clinicamente detectável. (Chapple *et al.*, 2018)

Clinicamente o periodonto saudável é caracterizado pela ausência de sangramento, de eritema e edema, os níveis fisiológicos do osso variam de 1,0 a 3,0 milímetros apical à linha da junção esmalte-cimento (JEC). (Fig. 1) (Chapple *et al.*, 2018)

O crescimento gengival > que 3mm acima da linha da JEC é referido como uma pseudobolsa periodontal, diferente dos casos de periodontite, em que o aumento da profundidade clínica de sondagem (PCS) ocorre por perda óssea abaixo da linha da JEC. (Chapple *et al.*, 2018)

Figura 1. Periodonto de Proteção Saudável



Fonte: Própria

Na transição da saúde periodontal para inflamação gengival pode ser observado $\geq 10\%$ de sítios sangrantes e para o crescimento gengival a profundidade clínica de sondagem é maior que 3,0 milímetros. (Chapple *et al.*, 2018)

O infiltrado inflamatório neutrofílico no epitélio juncional e linfócitos no tecido conjuntivo subjacente são aceitáveis até um nível biológico consistente com a gengiva saudável. Quando a saúde do periodonto é comprometida, do ponto de vista microbiológico, temos o modelo contemporâneo de interação hospedeiro–microrganismo na etiopatogenia da doença periodontal, neste caso a resposta do hospedeiro impulsiona uma disbiose incipiente. (Murakami *et al.*, 2018)

À medida que não são removidos os fatores causais, o infiltrado de células inflamatórias progride e iniciam-se as alterações teciduais. O tecido conjuntivo composto por fibroblastos, colágeno e vasos sanguíneos passa a ser infiltrado por linfócitos, plasmócitos e macrófagos que aderem a matriz de colágeno.

Linfócitos B, linfócitos T e Neutrófilos Polimorfonucleares são recrutados para a região do sulco gengival, por meio da quimiotaxia do sistema do hospedeiro. (Murakami *et al.*, 2018)

Com o aumento progressivo de leucócitos, há aumento do volume do tecido residual e de pequenos vasos sanguíneos, pois há presença de colágeno decomposto, exsudato, células degeneradas. Se a remoção do biofilme não for realizada, há a progressão da inflamação e perpetuação de microrganismos com alto fator de virulência. (Chapple *et al.*, 2018; Murakami *et al.*, 2018)

Entre os microrganismos que se perpetuam, alguns periodontopatógenos são bastante presentes na destruição dos tecidos periodontais, como a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, a *Porphyromonas gingivalis* e a *Fusobacteria nucleatum*. A *Prevotella intermedia* também foi referida como uma bactéria anaeróbia bastante presente em amostras de biofilme de pacientes em uso de aparelho ortodôntico fixo. (Ristic *et al.*, 2008)

Evidências emergentes sugerem um agrupamento de bactérias, em vez de espécies-chave na etiologia da inflamação e crescimento gengival. Há a caracterização da doença, de modo que a presença de uma espécie sobressalente não é considerada sinal patognomônico. (Trombelli *et al.*, 2018) Embora não se caracterize o predomínio de uma espécie-chave, áreas de crescimento gengival e bolsas periodontais são um ambiente favorável para a transição de bactérias Gram+ para bactérias Gram- anaeróbias. (Gong *et al.*, 2011)

1.4 Diagnóstico

1.4.1 Parâmetros clínicos

Para análise do crescimento gengival em pacientes que fazem uso de aparelho ortodôntico, diversos estudos utilizam a PCS (Alshahrani *et al.*, 2020; Abellán *et al.*, 2019; Gómez *et al.* 2018), que como dito anteriormente, nos permite caracterizar a pseudobolsa periodontal. (Chapple *et al.*, 2018)

Para o diagnóstico clínico de gengivite induzida por biofilme, Índice Gengival (IG) é um parâmetro relevante, neste caso uma sonda exerce leve pressão sobre as margens gengivais e o sangramento pode acontecer imediatamente ou em alguns segundos. (Trombelli *et al.*, 2018; Murakami *et al.*, 2018)

1.4.2 Parâmetros inflamatórios

As citocinas inflamatórias do fluido crevicular e da saliva, têm sido avaliadas por meio do *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) – (Ensaio Imunoabsorvente Enzimático). (Longo *et al.*, 2015)

A coleta do FCG possui manejo fácil e é uma boa ferramenta para análise bioquímica da resposta do hospedeiro frente à doença periodontal, (Abduljabbar *et al.*, 2017; Bergamo *et al.*, 2017) embora seja sensível a alterações por saliva, sangue e biofilme. (Gujar *et al.*, 2019)

O FCG está presente no sulco gengival e responde proporcionalmente à medida que a inflamação progride. O aumento na expressão de interleucinas (IL) IL-1 β , IL-6 e de *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) - Fator de Necrose Tumoral Alfa, pode ser encontrado no sulco gengival em doenças periodontais, elevando a inflamação e promovendo o estresse oxidativo no tecido. (Abduljabbar *et al.*, 2017; Bergamo *et al.*, 2017; Akran *et al.*, 2016)

Citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β , que é importante na regulação das reações imunológicas, estão relacionadas ao desenvolvimento do crescimento gengival e elevação do IG durante a terapia ortodôntica em crianças e adolescentes. (Gong *et al.*, 2011)

Assim como IL-1 β , níveis de TNF- α elevados no FCG têm sido percebidos em inflamação gengival, favorecendo a elevação de fatores de crescimento endotelial e a angiogênese. (Afacan *et al.*, 2018)

Já IL-6 é considerada importante no mecanismo regulatório do hospedeiro frente a infecção bacteriana e está relacionada a progressão da disbiose. (Naruishi, Nagata, 2018)

Pouco tem se falado da regulação dos mediadores inflamatórios em áreas como pseudobolsas periodontais (Andrade *et al.*, 2017; Kellesarian *et al.*, 2016) por este motivo são importantes estudos nessa área.

1.5 Tratamento

A homeostase gengival pode ser recuperada, o fato de não haver comprometimento do tecido ósseo facilita o retorno para a condição pré-patogênica. (Chapple *et al.*, 2018; Stein *et al.*, 2018)

O tratamento para o crescimento gengival pode ser iniciado com medidas preventivas, como a orientação de higiene bucal (OHB), que são tão importantes quanto as terapêuticas. (Le Foulder *et al.*, 2021) Há um particular cuidado na OHB para adolescentes e adultos jovens, é sempre necessário o reforço nos métodos motivacionais para a escovação, pois esta faixa etária costuma ser mais relapsa quanto a higienização. (Al Nazeh *et al.*, 2020; Islam *et al.*, 2014; Pinto *et al.*, 2017)

Mas quando o crescimento gengival não pode ser controlado por meio de OHB, lança-se mão de outras técnicas. O tratamento padrão ouro é a raspagem para remoção de biofilme, em geral realizada com curetas e/ou equipamento ultrassônico, (Kumar, 2019) obtendo bons resultados nos parâmetros clínicos de adolescentes em uso de aparelho ortodôntico. (Katsikanis *et al.*, 2020; Jiang *et al.*, 2021)

A raspagem no indivíduo que tem bráquetes e bandas e com crescimento gengival que pode recobrir a base superior voltada para a cervical e as aletas superiores, pode ser mais difícil. O ideal seria realizar a instrumentação ao redor de todo o bráquete até a linha amelocementária, considerando o potencial para acúmulo de biofilme. Contudo, a raspagem por instrumentação ultrassônica prolongada na base do bráquete, pode provocar descolamento (Bonetti *et al.*, 2014) e nem sempre é o suficiente para remoção profunda de biofilme (Teymouri *et al.*, 2016)

No crescimento gengival há possibilidade de recuperar a saúde e aspecto da gengiva por meio da remoção cirúrgica. (Chapple *et al.*, 2018) Mas como a gengivectomia corresponde a um meio invasivo que pode apresentar recidiva se a higiene oral não for mantida, (Lione *et al.*, 2020) é interessante estudar terapias adjuvantes, como antibióticos sistêmicos, locais e a aPDT. (Kumar, 2019) A aPDT tem sido considerada como adjuvante no tratamento da inflamação gengival durante o tratamento ortodôntico em adolescentes, sobretudo nos sítios com maior grau de inflamação. (Alqerban *et al.*, 2020; Malik, Alkadhi, 2020; Baeshen *et al.*, 2020) A grande vantagem relacionada à luz no tratamento de infecções é que essa técnica não apresenta seletividade bacteriana e efeitos colaterais. Em decorrência do uso indiscriminado de antibióticos, o desenvolvimento de novas estratégias para controle bacteriano, são bem-vindas, sejam sistemicamente ou locais. (Hamblin, Abrahamse, 2019; Vera *et al.*, 2021)

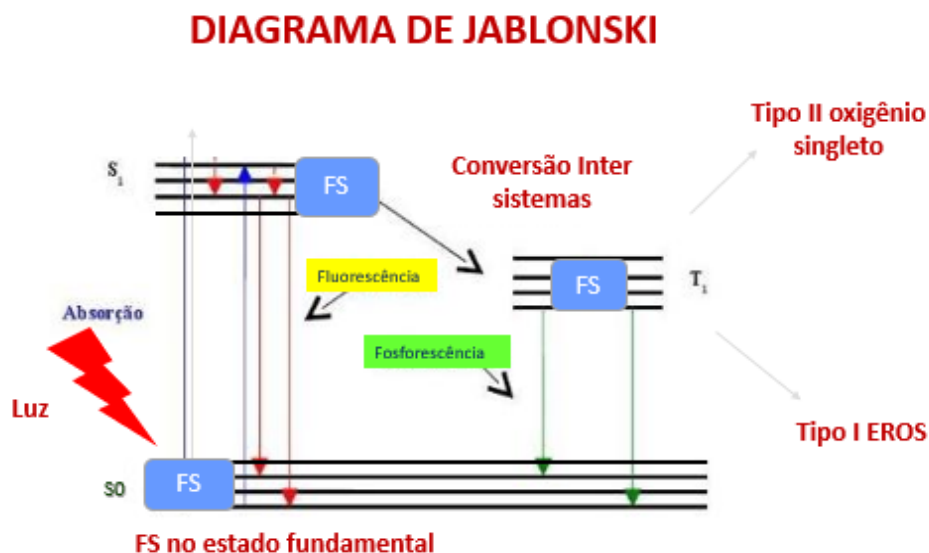
A aPDT tem demonstrado ser promissora como terapia adjuvante aos tratamentos periodontais por sua ação antimicrobiana e facilidade em se difundir nos tecidos, mas também apresenta bons resultados do ponto de vista clínico e inflamatório. (Kamran *et al.*, 2019) A técnica consiste no uso do *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (LASER) – (Amplificação de luz por emissão estimulada de radiação) ou *Light Emitting Diode* (LED) – (Diodo emissor de luz) com comprimento de onda apropriado associado a um agente fotossensibilizador (FS) exógeno. (Rajesh *et al.*, 2011)

Os efeitos citotóxicos de células e tecidos alvos na aPDT acontecem pelo uso da radiação em um comprimento de onda próximo a ativação de um composto absorvedor de luz, o FS, que a partir de seu estado triplete pode transferir energia e dar origem a reações de fotoquímicas do tipo I ou II. Na reação fotoquímica do tipo I temos a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) – que podem danificar lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, levando a destruição possível de bactérias, vírus, fungos e parasitas. Na reação fotoquímica do tipo II, o oxigênio singleto – altamente reativo, danifica células ou tecidos locais onde houver um fotossensibilizador associado à luz. (Hamblin, Abrahamse, 2019; Cecatto *et al.*, 2020; Benov *et al.*, 2015)

O azul de metileno, FS bastante utilizado, pertence a classe das fenotiazinas, composto por 2 anéis de benzeno, ligados a um átomo de enxofre e um de nitrogênio. (Pfitzner *et al.*, 2004, Wilson *et al.*, 1993) Como o azul de metileno é composto de moléculas catiônicas que possuem baixo peso molecular, quando inserido em uma pseudobolsa no crescimento gengival, difunde-se facilmente no tecido e liga-se rapidamente às bactérias locais. (Betsy *et al.*, 2014)

É essencial que a escolha do FS seja bem-feita para que o efeito fotodinâmico aconteça, devendo este ser cineticamente e termodinamicamente estável, sintetizado rapidamente, ter baixa toxicidade, não causar morte celular sem ativação e de preferência ter baixo custo. O azul de metileno absorve melhor os fótons de luz no comprimento de onda entre 600 a 660 nm, comprimentos de onda maiores parecem reduzir a eficácia do FS na aPDT. (Soares *et al.*, 2019; Wainwright *et al.*, 2015) Em suma, o mecanismo de ação da aPDT pode ser bem representado pelo Diagrama de Jablonski visto de modo simplificado na figura 2:

Figura 2. Diagrama de Jablonski



Fonte: Própria

Um agente fotossensibilizador absorve a luz no comprimento de onda de 600 a 660 nanômetros (Wainwright *et al.*, 2015), passando de FS em estado fundamental (S_0) para um estado excitado singleto (S_1), neste momento há perda de energia por processo radiativo denominado fluorescência ou há a conversão para o estado Triplete (T_1). Ainda, a partir da conversão Inter sistemas pode transformar-se em EROS – reação de tipo I ou oxigênio singleto – reação do tipo II, que é capaz de promover a morte bacteriana seletiva. (Betsy *et al.*, 2014)

Com relação aos parâmetros dosimétricos, como tempo de pré-irradiação, exposição radiante e concentração do FS, ainda não há heterogeneidade, havendo apenas a sugestão do uso de valores mínimos e/ou máximos, para obtenção do resultado e a fim de evitar desconforto térmico e fototoxicidade. (Cecatto *et al.*, 2020) As discrepâncias dosimétricas representam um desafio para mensurar a eficácia e obter os efeitos antimicrobianos desejados. (Alvarenga *et al.*, 2019) Os protocolos clínicos incluem diferentes fontes de luz, comprimentos de onda, tempos de irradiação e concentrações de FS. (Moro *et al.*, 2021) Apesar da complexidade dos tecidos periodontais, os lasers de diodo têm sido utilizados com auxílio de fibras ópticas ou aplicação transgengival em bolsas ou pseudobolsas periodontais. As aplicações transgengivais são consideradas para a aPDT, pois a espessura do tecido gengival é fina ($0,84 \pm 0,06\text{mm}$), permitindo a transmissão de energia. (Gómez *et al.*, 2018; Schär *et al.*, 2020; Wenzler *et al.*, 2019)

Por fim, a aPDT associada ao tratamento padrão-ouro é terapêutica considerada quando o reforço das práticas educativas de higiene para o adolescente não é o suficiente no controle do crescimento gengival. Adicionalmente, são necessários ensaios clínicos bem delineados que garantam bons resultados no tratamento de áreas de crescimento gengival predispostas ao uso de aparelho ortodôntico fixo por adolescentes. (Le Fouler *et al.*, 2021; Gómez *et al.*, 2018; Verrusio *et al.*, 2018)

2 Justificativa

Sabe-se que adolescentes que estão sob cuidados ortodônticos com aparelho fixo são mais propensos ao crescimento gengival. A inflamação gengival associada ao crescimento gengival para o curso do tratamento ortodôntico traz malefícios como o recobrimento dos bráquetes, perda de estética e progressão da disbiose, que pode levar ao desenvolvimento da periodontite, sendo necessário em alguns casos a interrupção do tratamento ortodôntico.

Em vista da escassez de trabalhos que tenham avaliado a aPDT como adjuvante e a raspagem em áreas com crescimento gengival, são necessários estudos clínicos controlados e randomizados que testem estas terapias em adolescentes em uso de aparelho ortodôntico fixo e que tem dificuldade em manter uma boa higienização.

Ao garantir a saúde gengival, livre de crescimento gengival, por meio de processos educativos, de tratamentos convencionais e adjuvantes, conseqüentemente temos um tratamento ortodôntico sem interrupções e complicações. O olhar cuidadoso para o paciente da odontohebiatria é essencial no contexto das três esferas de tratamento.

Hipótese experimental: A aPDT como adjuvante à raspagem periodontal é eficaz no tratamento do crescimento gengival causado pela má higiene associada ao uso do aparelho ortodôntico em adolescentes.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia da aPDT como adjuvante e da raspagem nos parâmetros clínicos e inflamatórios em participantes adolescentes com crescimento gengival tendo como fator predisponente o uso de aparelho fixo.

3.2 Objetivos Específicos

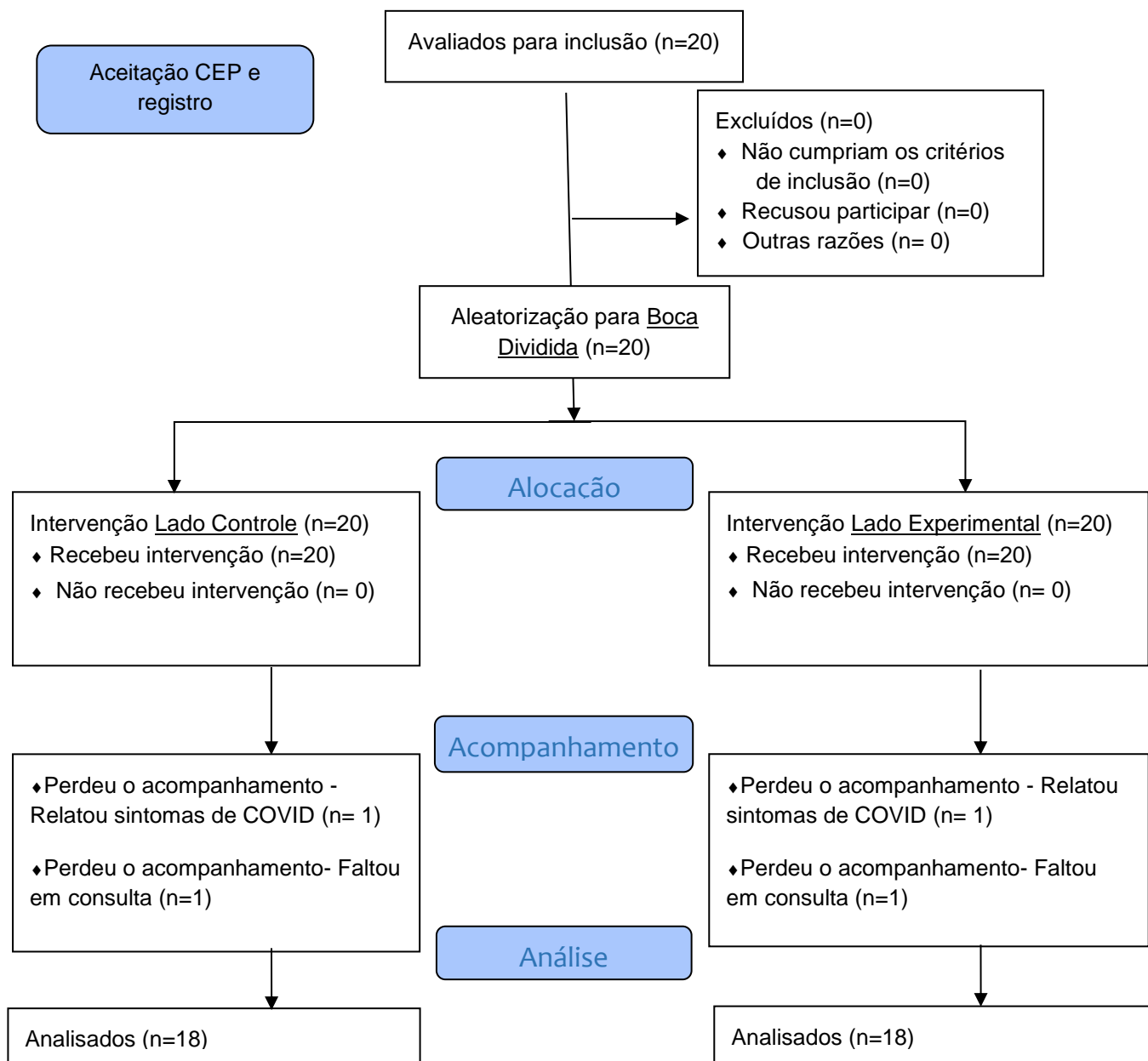
- Avaliar parâmetros clínicos periodontais por meio de sonda periodontal no baseline e após 30 dias de acompanhamento:
 - Índice gengiva
 - Profundidade clínica de sondagem
 - Profundidade clínica de sondagem em sítios específicos
 - Índice de placa visível
 - Nível clínico de inserção
- Dosar citocina pró-inflamatória (IL-1 β , IL-6, TNF- α) e regulatória (IL-10) no fluido crevicular gengival, no baseline e após 30 dias de acompanhamento.

4 Materiais e Métodos

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado, boca dividida e prospectivo com 30 dias de acompanhamento e está de acordo com os critérios para delineamento do checklist *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT). (Schulz k, Altman DG, Moher D, CONSORT Group, 2010) O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE), parecer nº 3505689, parecer consubstanciado encontra-se no ANEXO 1. Após explicação verbal sobre o estudo, os participantes que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – ANEXO 2 e o Termo de Assentimento (TA) - ANEXO 3 para menores de 11-18 anos. O Projeto foi registrado no www.clinicaltrial.gov (NCT 04037709). Os pacientes foram captados e receberam a intervenção em três centros: Dellê Odontologia – Rua Marília de Dirceu, 23, Jardim Aeroporto- São Paulo. Odontocorpus Odontologia e Saúde – Rua Dr Antonio Ruggiero Junior, 16, Pirituba- São Paulo. Clínica Fernanda Dias e Equipe – Avenida Mariana Ubaldina do Espírito Santo, 761, Bom Clima – Guarulhos, Brasil, no período de agosto de 2020 a outubro de 2021. Não houve conflito de interesses em relação as clínicas em que a pesquisa foi realizada. Este protocolo de estudo foi financiado pelos próprios autores.

A amostra foi composta por participantes que utilizavam aparelho fixo há no mínimo 12 meses e com gengivite acompanhada de crescimento gengival. Foram coletados parâmetros clínicos periodontais para diagnóstico e avaliação e amostras das citocinas do fluido crevicular para comparação da melhora no primeiro dia e após 30 dias.

Figura 3 – Fluxograma do estudo



Fonte: Adaptado de Schulz k, Altman DG, Moher D, CONSORT Group, 2010

Diagrama de fluxo do progresso das fases do ensaio clínico randomizado boca dividida. Antes de iniciar o trabalho clínico o projeto foi aprovado pelo CEP, os participantes foram avaliados para inclusão, houve a aleatorização, a intervenção nos lados da boca dividida para grupo controle e experimental, o acompanhamento e as análises.

4.1 Cálculo do tamanho da amostra

O tamanho total da amostra foi calculado para 17 participantes, tendo a boca dividida em dois lados. O cálculo amostral foi realizado com base na fórmula de cálculo descrita por Kadam e Bhalerao. Considerando-se um *drop-out* de 20% foram inseridos participantes extras em cada grupo, totalizando 20 participantes. (Kadam, Bhalerao, 2010)

4.2 Descrição da amostra

A amostra foi composta por participantes sem co-morbidades em tratamento com aparelho ortodôntico fixo com gengivite instalada e crescimento gengival. Foram consideradas como queixas relevantes do paciente para iniciar a anamnese: sangramento gengival (gosto metálico/ sabor alterado e visualização), dor, halitose, dificuldade em comer e aumento percebido do volume da gengiva após iniciar o tratamento ortodôntico. (Chapple *et al.*, 2018)

4.3 Critérios de inclusão/ exclusão

Foram incluídos:

- participantes sem co-morbidades,
- com idade entre 11 e 22 anos,
- dentição permanente, em uso de aparelho ortodôntico fixo há no mínimo 1 ano.
- Com inflamação gengival e crescimento gengival predisposto por fator local (aparelho ortodôntico) (Caton *et al.*, 2018)

Foram excluídos:

- gestantes,
- participantes com deformidades maxilares e mandibulares,
- periodontite,
- que fizeram uso de antibiótico ou anti-inflamatório não esteroideais nos últimos 3 meses,

- terapia continua com corticosteroides (Goméz *et al.*, 2018, Al-Shammery *et al.*, 2019)
- utilizado enxaguantes bucais nos últimos 3 meses.

4.4 Calibração do pesquisador

Para a calibração, um examinador avaliou 5 participantes, os quais não fizeram parte do estudo. Foram feitos 2 exames periodontais completos (exceto terceiros molares) por participante, em quatro sítios por dente, para PCS e nível clínico de inserção (NCI), esta avaliação foi realizada com sonda periodontal milimetrada. O intervalo entre os exames periodontais foi de 2 horas. O *coeficiente de correlação intraclassa* (ICC) foi calculado de forma a avaliar a concordância intra-examinador $\geq 0,75$ em relação aos parâmetros clínicos periodontais. Para tanto foi utilizado o software IBM SPSS Statistics. Os resultados do ICC para análise de concordância demonstraram excelência na calibração, tendo como medida média 0,997 na variável PCS e 0,993 para NCI.

4.5 Aleatorização

Para distribuir aleatoriamente os lados da boca dividida nos grupos experimentais, foi realizado um sorteio com 20 números por meio do site sealedenvelope.com. A distribuição dos grupos foi idêntica (1:1) para os dois lados. A distribuição foi realizada de forma blocada (20 grupos de 2 lados, um lado experimental e o outro o controle). Envelopes opacos foram identificados com números sequenciais (1 a 20) e no seu interior a informação do lado experimental correspondente conforme a ordem obtida no sorteio. Os envelopes foram selados e permaneceram lacrados em ordem numérica até o momento dos tratamentos periodontais. O sorteio e a preparação dos envelopes foram realizados por uma pessoa não envolvida no estudo. Imediatamente antes do tratamento periodontal o pesquisador responsável pelo tratamento com aPDT abriu 1 envelope (sem alterar a sequência numérica) e realizou o procedimento indicado. Foram incluídos 20 participantes em vista do *drop out* de 20% previsto em todo estudo clínico.

4.6 Cegamento do estudo

Apenas o pesquisador responsável pela realização do tratamento com aPDT (que abriu os envelopes aleatorizados) soube qual tratamento atribuído a cada lado da boca do participante. A identificação de cada grupo foi revelada apenas após análise estatística dos dados. Portanto, o pesquisador responsável pela coleta de dados e por realizar o tratamento com ultrassom (em boca toda) foi cego quanto aos tratamentos atribuídos aos lados. O participante também foi cego ao tipo de tratamento realizado, uma vez que o tratamento periodontal foi idêntico em ambos os lados e o tratamento com aPDT foi simulado no lado controle.

4.7 Desenho Experimental

Os 20 participantes tiveram a boca dividida em lado experimental e controle, da seguinte forma:

G1- Lado Grupo Controle (n=20) – participantes que receberam raspagem + aplicação da aPDT placebo.

Figura 4. Desenho experimental grupo controle



Fonte: própria

Grupo controle: Após realizar a raspagem com ultrassom foi realizada a aleatorização e o lado placebo recebeu o FS e a mimetização do laser.

G2- Lado Grupo Experimental (n=20) – participantes que receberam raspagem + aplicação da aPDT. A terapia fotodinâmica foi realizada em 4 sítios com crescimento gengival.

Figura 5. Desenho experimental grupo experimental



Fonte: própria

Grupo experimental: Após realizar a raspagem com ultrassom foi realizada a aleatorização e o lado experimental recebeu o FS e o laser.

4.8 Variáveis do estudo

A variável primária do estudo foi

- IG: por meio de sonda periodontal no baseline (T_0) e 30 dias após o tratamento (T_1) (Paschoal *et al.*, 2015)

As variáveis secundárias do estudo foram:

- Dados do exame clínico periodontal: IP, PCS e NCI por meio de sonda periodontal no baseline (T_0) e 30 dias após o tratamento (T_1)
- Avaliação de citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α e IL-10 pelo método de ELISA no fluido crevicular no baseline (T_0) e 30 dias após o tratamento (T_1)

4.9 Avaliações pré-tratamento

Os participantes assinaram o TCLE e o TA, foi realizada a Anamnese (ANEXO 4) e exame clínico periodontal (ANEXO 5). Esses dados foram coletados por 1 pesquisador calibrado. Também foram realizadas coletas de fluído crevicular para avaliação das citocinas inflamatórias. Em seguida foi realizado o tratamento conforme aleatorização.

4.10 Anamnese

Além das perguntas relacionadas à saúde geral do participante, foram coletados dados demográficos e econômicos (idade, sexo, estado civil, ocupação, nível educacional, condições de vida, salário), história clínica (queixa principal, estado da doença atual, história médica, história odontológica, medicamentos).

4.11 Avaliação clínica do sangramento gengival

Foi realizada por avaliador calibrado com sonda periodontal milimetrada (Sonda Periodontal Universidade Carolina do Norte 15 - Hu-Friedy™). A sonda periodontal foi passada por todos os sítios na margem gengival de todos os dentes, foram aguardados 30 segundos e ao menor sinal de sangramento, o sítio foi anotado quanto a presença ou ausência de sangramento de modo dicotômico (Ainamo, Bay, 1975). O sangramento gengival foi avaliado em 6 sítios (mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, lingual, disto-lingual).

- Índice gengival: presença (1) ou ausência (0) de sangramento da margem gengival à sondagem. (Ainamo, Bay, 1975) O Índice gengival foi apresentado em porcentagem (%). O resultado foi baseado pela razão do total de sítios por sítios afetados. (Ainamo, Bay, 1975) Foi considerada gengivite $\geq 10\%$ de sangramento. (Chapple *et al.*, 2018)
- Se $\geq 10\%$ de sangramento o participante seguia para o Exame Clínico Periodontal completo.

4.12 Exame clínico periodontal

- Foi realizado por avaliador calibrado com sonda periodontal milimetrada (Sonda periodontal da Universidade Carolina do Norte UNC-15 (Hu-Friedy™) Todos os dentes (exceto terceiros molares) foram avaliados em 4 sítios (mesio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual e disto-lingual) para os parâmetros citados. (Stein *et al.*, 2018; Paschoal *et al.*, 2015)
- Profundidade clínica de sondagem: foi avaliada em milímetros da base sondável da bolsa periodontal até a margem gengival livre.
- Nível clínico de inserção: foi avaliado em milímetros da junção esmalte-cimento até a base sondável da bolsa periodontal
- Índice de placa visível (Ainamo, Bay, 1975): presença (1) ou ausência (0) de placa supragengival visível.

4.13 Citocinas do fluido crevicular gengival

- Coleta de fluido crevicular gengival- As amostras de fluido das regiões com gengivite e crescimento gengival foram coletados no interior das falsas bolsas. O local foi isolado com roletes de algodão. O cone de papel foi colocado até que a resistência fosse sentida, o cone permanecia em posição por 30 segundos. Se houvesse contaminação com sangue utilizava-se um novo cone após 90 segundos. Foram coletados 1 cone por sítio, totalizando 8 cones por participante. Os cones foram colocados em 1 tubo de 1,5ml para microcentrifuga (Eppendorff®) estéril e armazenado a -80°C. Apenas durante a coleta foram armazenados em gelo dentro de um isopor e devidamente identificados.
- Análise do perfil das citocinas salivares e do fluido crevicular - Foi realizada determinação de níveis de fluido crevicular dos marcadores inflamatórios IL1-β IL-6, TNF-α e IL-10 por ELISA, usando kits comerciais (Peprotech Inc., Rocky Hill, NJ, EUA) conforme instruções do fabricante. As extrações das citocinas dos cones foram realizadas por meio de um *pool*, a diluição foi realizada com solução de Phosphate-buffered saline (PBS).

4.14 Tratamento periodontal

Pacientes dos grupos G1 e G2 receberam tratamento periodontal (raspagem) com curetas universais (Hu-Friedy). A Raspagem foi realizada em uma sessão. O tratamento periodontal foi realizado por apenas um pesquisador experiente, que também realizou os exames periodontais. A reavaliação periodontal foi realizada após 30 dias. (Paschoal *et al.*, 2015, Stein *et al.*, 2018) Os participantes receberam Raspagem na boca toda, entretanto no lado controle receberam simulação da terapia fotodinâmica. Foi utilizada para remoção de biofilme supragengival o aparelho de ultrassom portátil da marca Gnatus.

Para garantir a biossegurança precauções foram tomadas:

- Para minimizar a produção de aerossol: sucção constante de saliva, uso de bomba à vácuo, atendimento à 4 mãos,
- Barreiras mecânicas: botões manuais, alças de refletores, encosto de cadeira, seringa tríplice e laser,
- Equipamentos de proteção individual: jaleco, touca, luvas, máscara N95, óculos, face shield e propé,
- Intervalo entre participantes: preferência para 1 paciente por dia ou intervalo mínimo entre consultas de 4 horas.

4.15 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana

O lado Experimental – Grupo 2 recebeu aPDT, que associa um agente fotossensível à uma fonte de luz e oxigênio.

Os procedimentos foram realizados após a raspagem conforme descrito:

Aplicação de azul de metileno (0,005% - Chimiolux 5, DMC - Água purificada e azul de metileno) no interior do sulco gengival. (Teymouri *et al.*, 2016)

- Foi aguardado 1 minuto, (Alvarenga *et al.*, 2015)

As irradiações foram realizadas com o diodo laser vermelho ($\lambda = 660$ nm) com potência de saída de 100 mW (Therapy EC, DMC, São Paulo, SP, Brazil). O cabeçote do laser foi posicionado em contato direto com a gengiva. (Alvarenga *et al.*, 2018; Stein, 2018; Teymouri *et al.*, 2016)

- Foi aplicado em 4 sítios com presença de crescimento gengival, (Stein *et al.*, 2018)
- Lavado em abundância com água até a remoção total do fotossensibilizador,
- Durante a aplicação do laser, participante e operador utilizaram óculos de proteção,
- O lado do Grupo 1 (Controle - placebo da aPDT) recebeu azul de metileno para mimetizar a irrigação com o fotossensibilizador, mas o laser foi desligado no momento da aplicação, neste momento o participante já estava com óculos opaco que não permitia enxergar, apenas ouvir o som mimetizado do laser.

Os procedimentos da aPDT placebo foram realizados após a raspagem conforme descrito:

Aplicação do fotossensibilizador no sulco gengival. (Teymouri *et al.*, 2016)

- Foi aguardado 1 minuto, (Alvarenga *et al.*, 2015)
- As irradiações mimetizadas foram realizadas com o mesmo aparelho posicionado da mesma forma e no mesmo tempo de aplicação, entretanto o laser foi desligado e o som mimetizado emitido,
- Foi aplicado em 4 sítios em que havia presença de crescimento gengival, (Stein *et al.*, 2018)
- Foi lavado em abundância com água para remoção do FS,
- Durante a aplicação do laser mimetizado o participante e operador utilizaram óculos de proteção e o participante um óculos opaco em baixo do óculos de proteção.

Quadro 1. Parâmetros empregados na aPDT

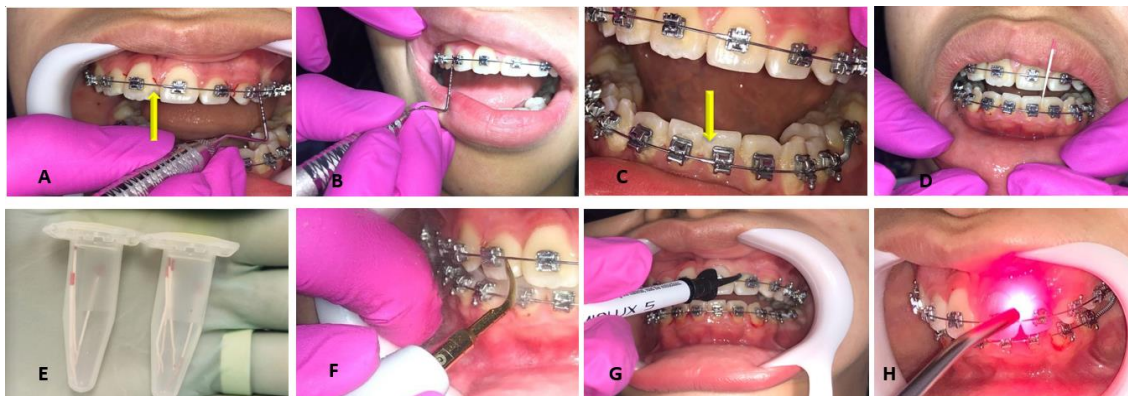
Parâmetros dosimétricos	
Comprimento de onda [nm]	660
Modo de funcionamento	Contínuo
Potência [mW]	100
Área do feixe [cm ²]	0,5
Tempo de exposição [s]	90
Irradiância [mW/cm ²]	200
Exposição radiante [J/cm ²]	18
Energia radiante [J]	9
Número de pontos irradiados	1 por sítio
Locais de aplicação	4 sítios mais afetados
Técnica de aplicação	Transgengival (contato)
Número de sessões e frequência	Sessão única
Fotosensibilizador	Azul de metileno (0,005%)

nm: nanômetros; mW: miliwatts; cm²: centímetros quadrados; s: segundos; W: watts; J: joules.

4.16 Sequência dos procedimentos clínicos

Abaixo a representação da sequência de procedimentos realizados na clínica após a Anamnese. Até o tratamento com raspagem (G) o pesquisador cego foi responsável, a partir da inserção do azul de metileno no sulco gengival para aPDT o segundo pesquisador foi responsável.

Figura 6. Sequência clínica



A. Índice gengival. B. Profundidade clínica de sondagem e nível clínico de inserção. C. Índice de Placa. D. Coleta de citocina com cone endodôntico. E. Eppendorfs com cones armazenados. F. Raspagem com ultrassom. G. Azul de metileno inserido no sulco gengival. H. Aplicação do laser apenas no lado experimental.

4.17 Orientação de higiene bucal

Imediatamente após o T1 os participantes receberam atividade educativa para OHB, escovação com técnica de BASS, especificações quanto a escova de dentes (cerdas macias, fileiras adaptadas para higienização abaixo e acima dos bráquetes, estreita, cabeça retangular), escova interdental (0,05mm), fio dental (com cera associado ao passa fio).

Foi realizada uma apresentação gráfica em PowerPoint com linguagem de fácil compreensão voltada para o público de hebiatria. Após realizamos a demonstração da técnica em manequim e permitimos que o participante reproduzisse o conteúdo aprendido.

Para garantir que os participantes aderiram as orientações, foram oferecidos escova, escova interdental, passa fio, fio dental e creme dental.

Em todos os encontros o participante foi questionado sobre o uso de enxaguatório bucal, pois não foi permitido durante a pesquisa. Se fosse comunicado o uso, o participante seria excluído da pesquisa, sem prejuízo dos cuidados de higiene que seriam passados por motivos éticos.

4.18 Análise Estatística

As planilhas com os dados da pesquisa foram acondicionadas em espaço próprio durante a pesquisa. Para evitar entrada dupla de dados, apenas um pesquisador ficou responsável pela digitalização em planilhas para análise estatística.

As variáveis categóricas foram apresentadas com frequências absolutas e relativas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar se a distribuição das variáveis quantitativas era normal. As variáveis quantitativas foram apresentadas com mediana e intervalo interquartil e comparadas com o teste de Wilcoxon e representados com gráficos de desenho esquemático (*boxplot*). O software utilizado foi o SPSS versão 18. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

5. Resultados

Não houve intercorrências a serem notificadas ao CEP ao longo do desenvolvimento do projeto e o estudo não teve que ser finalizado antes do tempo. Todos os participantes e responsáveis que desejaram receber os dados da pesquisa e o artigo inseriram os e-mails no TCLE.

Tabela 1. Dados demográficos e econômicos dos participantes com gengivite em uso de aparelho ortodôntico

Variável	n=20
Idade (anos), mediana e intervalo interquartilico	15 (14 - 21)
Sexo	
Feminino	12 (60%)
Masculino	8 (40%)
Etnia	
Leucoderma	11 (55%)
Melanoderma	7 (35%)
Oriental	1 (5%)
Pardo	1 (5%)
Estado Civil	
Solteiro	20 (100%)
Nível de escolaridade	
Fundamental completo	1 (5%)
Médio completo	3 (15%)
Médio incompleto	14 (70%)
Superior incompleto	2 (10%)
Profissão	
Estudante	17 (85%)
Não trabalha	2 (10%)
Trabalha	1 (5%)
Renda familiar	
< 2 salários-mínimos	5 (25%)
3-5 salários-mínimos	11 (55%)
> 5 salários-mínimos	4 (20%)

Os participantes foram caracterizados com relação aos dados demográficos, tendo idade mediana de 15 anos.

Maioria do sexo feminino (60%).

A etnia mais frequente foi leucoderma (55%) seguido de melanoderma (35%).

Todos os participantes eram solteiros (100%).

Maioria estudantes (85%), com ensino médio incompleto (70%).

A condição econômica demonstrou renda familiar entre 3 e 5 salários-mínimos (75%).

Tabela 2. Avaliação da condição sistêmica e medicamentosa

Variável	n=20
Doenças sistêmicas	
Não	20 (100%)
Tratamento médico atual	
Não	20 (100%)
Medicamento de uso contínuo	
Não	19 (95%)
Anticoncepcional	1 (5%)

Na Avaliação da condição sistêmica para caracterização de saúde observou-se que nenhum dos participantes apresentava doenças sistêmicas (100%)

Nenhum participante utilizava medicamento de uso contínuo para tratar doença sistêmica, apenas 1 participante (5%) utilizava medicamento anticoncepcional.

Tabela 3. Condição bucal do participante para outras alterações odontológicas, hábitos de higiene bucal e características do aparelho ortodôntico

Variável	n=20
Outras alterações odontológicas	
Não	12 (60%)
Cálculo	3 (15%)
Até 1 lesão de cárie	1 (5%)
Lesões de cárie	4 (20%)
Escova os dentes quantas vezes/dia	
1	1 (5%)
2	10 (50%)
3	8 (40%)
4	1 (5%)
Fio dental	
Não	14 (70%)
Sim	6 (30%)
Escova interdental/frequência	
Não	13 (65%)
De vez em quando	7 (35%)
Há quanto tempo usa aparelho (anos), mediana e intervalo interquartilico	
	2 (1 - 3)
Tipo de aparelho	
Convencional	19 (95%)
Autoligado	1 (5%)
Material do bráquete	
Aço inoxidável	20 (100%)

A maioria dos participantes não apresentava outras alterações odontológicas (60%), observou-se que (20%) apresentavam lesões de cárie.

Os hábitos de higiene demonstram que (50%) escova os dentes apenas 2 vezes/dia, (70%) não utilizam fio dental e (65%) não utilizam escova interdental.

Os participantes tinham mediana de 2 anos de uso de aparelho.

O tipo de aparelho mais utilizado foi o convencional (95%) em aço inoxidável (100%).

Tabela 4. Parâmetros Clínicos referentes ao Exame Periodontal

Mediana e intervalo interquartilico	Basal	30 dias	p (Basal x 30 dias)*
PCS POR SÍTIO			
Controle	4,25 (4,00 – 4,75)	3,63 (3,00 - 3,81)	<0,001
Experimental	4,75 (4,00 - 4,94)	3,50 (3,00 - 4,00)	<0,001
p (Controle x Experimental)*	0,253	0,546	
IG			
Controle	0,26 (0,15 - 0,33)	0,09 (0,05 - 0,15)	<0,001
Experimental	0,22 (0,19 - 0,30)	0,11 (0,08 - 0,17)	0,001
p (Controle x Experimental)*	0,279	0,492	
IP			
Controle	0,33 (0,22 - 0,37)	0,17 (0,08 - 0,27)	0,001
Experimental	0,31 (0,28 - 0,42)	0,19 (0,09 - 0,30)	0,003
p (Controle x Experimental)*	0,334	0,118	
PCS			
Controle	1,84 (1,76 - 1,90)	1,63 (1,60 - 1,73)	0,001
Experimental	1,85 (1,81 - 1,89)	1,70 (1,68 - 1,76)	0,001
p (Controle x Experimental)*	1,000	0,209	
NCI			
Controle	1,33 (1,29 - 1,35)	1,33 (1,31 - 1,41)	0,577
Experimental	1,33 (1,26 - 1,46)	1,33 (1,28 - 1,48)	0,717
p (Controle x Experimental)*	0,688	0,196	

*Teste dos sinais de Wilcoxon

Ambos os grupos diminuíram PCS por sítio, $p < 0,001$. Não se observou diferença entre os grupos nos momentos basal ($p = 0,253$) e 30 dias ($p = 0,546$).

Ambos os grupos diminuíram IG, $p < 0,001$ e $0,001$, respectivamente. Não se observou diferença entre os grupos nos momentos basal ($p = 0,279$) e 30 dias ($p = 0,492$).

Ambos os grupos diminuíram IP em 30 dias, $p = 0,001$ e $0,002$, respectivamente. Não se observou diferença entre os grupos nos momentos basal ($p = 0,334$) e 30 dias ($p = 0,118$).

Ambos os grupos diminuíram PCS em 30 dias, $p = 0,001$ e $p = 0,001$. Não se observou diferença entre os grupos nos momentos basal ($p = 1,000$) e 30 dias ($p = 0,209$).

Não se observou diferenças em relação ao NCI nem entre tempos, nem entre grupos.

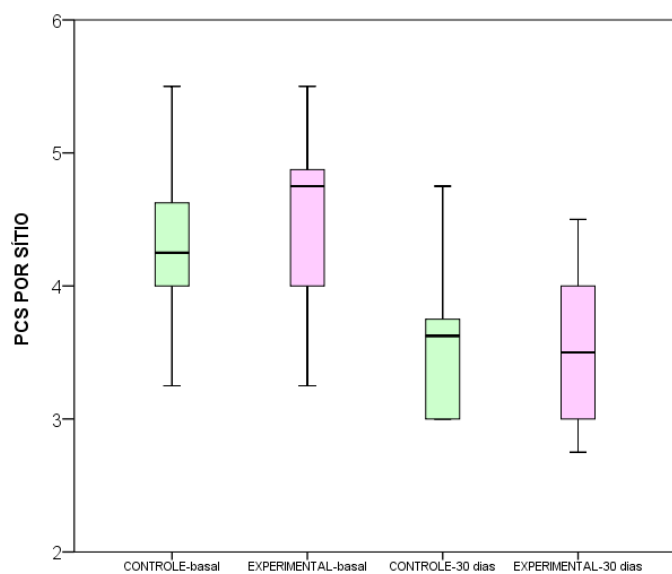
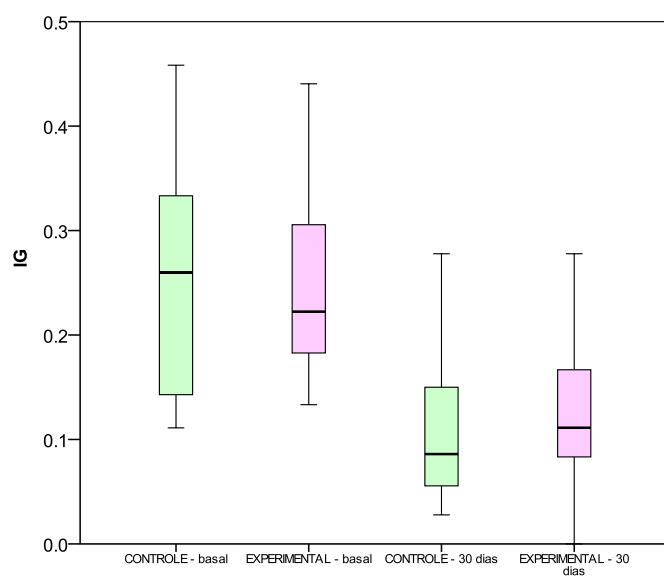
Figura 7. Profundida clínica de sondagem por sítio**Figura 8. Índice Gingival**

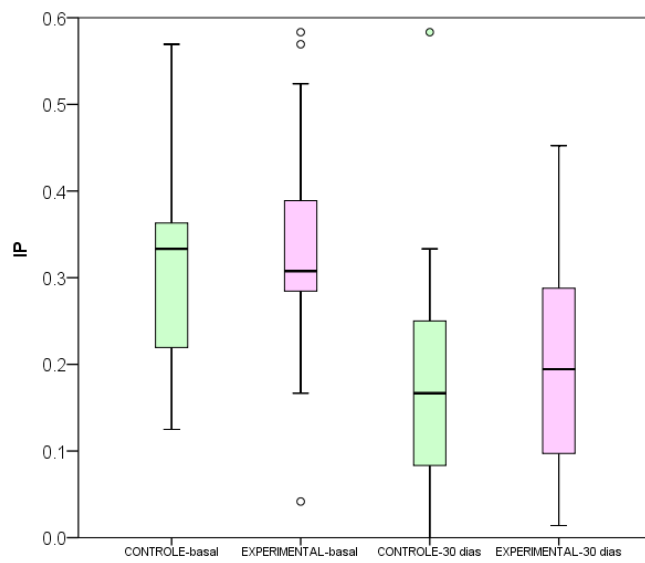
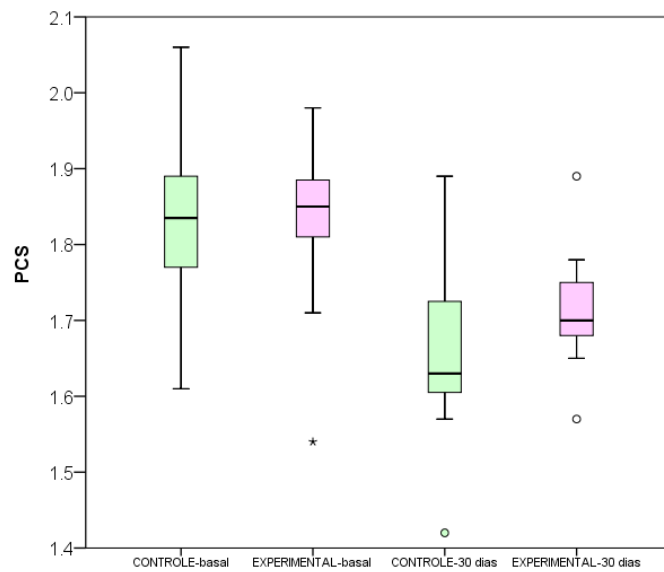
Figura 9. Índice de placa**Figura 10. Profundidade clínica de sondagem**

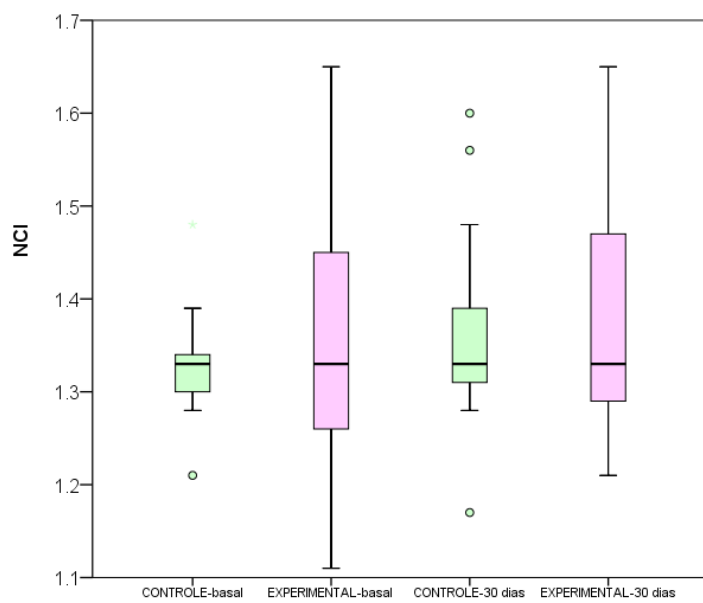
Figura 11. Nível clínico de inserção

Tabela 5. Citocinas pró-inflamatórias e regulatória

Mediana e intervalo interquartilico	Basal	30 dias	p (Basal x 30 dias)*
IL-1B			
Controle	49 (41 - 71)	52 (45 - 64)	0,776
Experimental	42 (29 - 47)	36 (25 - 39)	0,182
p (Controle x Experimental)*	0,034	0,008	
IL-6			
Controle	191 (138 - 275)	141 (114 - 181)	0,011
Experimental	258 (175 - 415)	158 (93 - 236)	0,003
p (Controle x Experimental)*	0,033	0,807	
TNF			
Controle	194 (186 - 220)	176 (163 - 189)	0,078
Experimental	214 (182 - 252)	164 (146 - 182)	0,001
p (Controle x Experimental)*	0,196	0,087	
IL-10			
Controle	12 (12 - 13)	13 (12 - 14)	0,530
Experimental	12 (12 - 13)	13 (12 - 14)	0,176
p (Controle x Experimental)*	0,925	0,615	

*Teste dos sinais de Wilcoxon

O grupo experimental apresentou valores menores de IL-1B que o grupo controle no basal e em 30 dias ($p=0,034$ e $p=0,008$). Não se observou variação entre os tempos basal e 30 dias para ambos os grupos ($p=0,776$ e $p=0,182$)

Ambos os grupos diminuíram respectivamente IL-6, $p=0,011$ e $p=0,003$, quando comparado basal x 30 dias. Não se observou diferença entre os grupos no momento 30 dias ($p=0,807$).

O grupo experimental diminuiu valores de TNF em 30 dias ($p=0,001$), porém não se observa diferença entre os grupos nos momentos basal ($p=0,196$) e 30 dias ($p=0,087$).

Não se observa diferenças em relação ao IL-10 nem entre tempos, nem entre grupos.

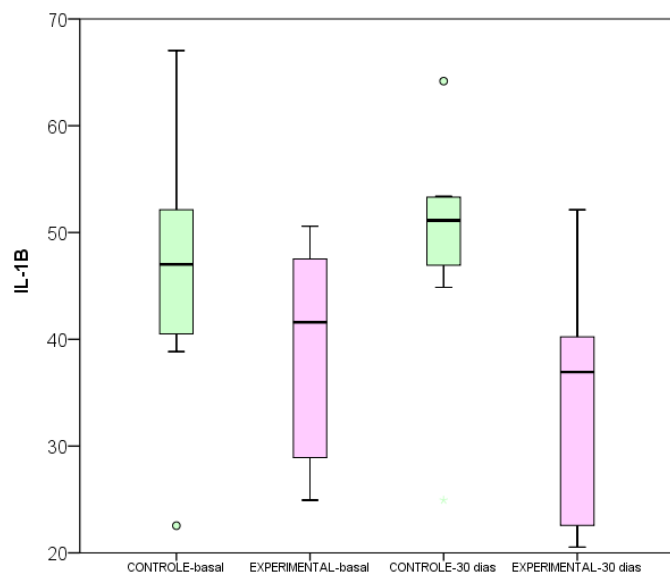
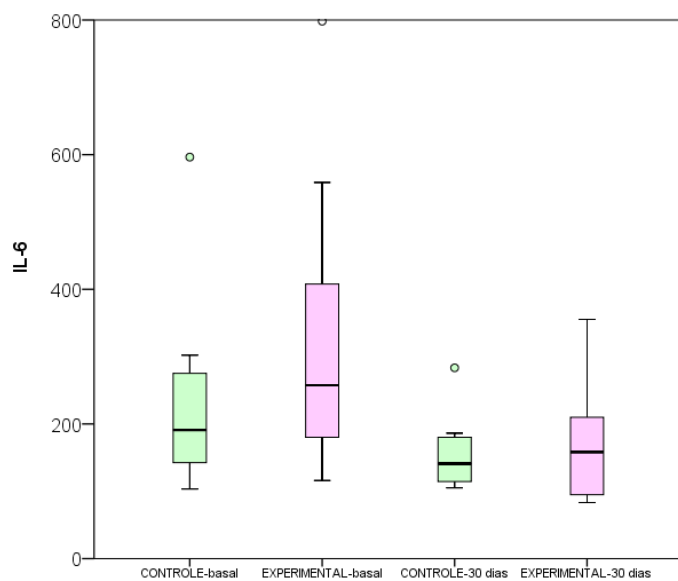
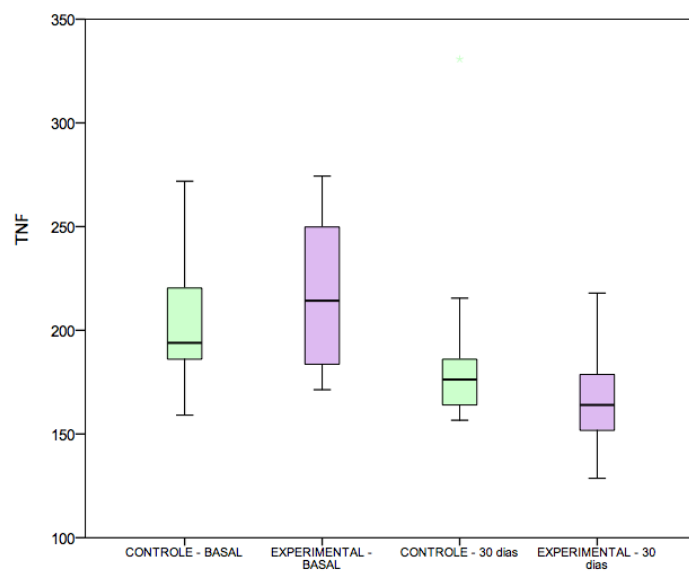
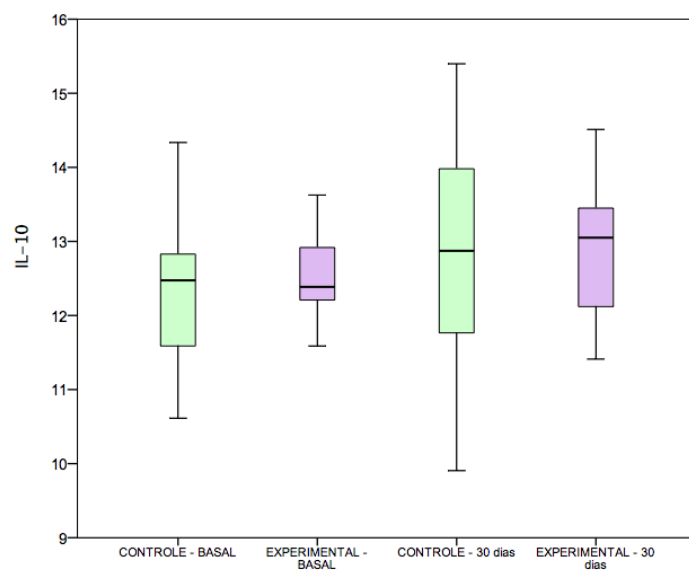
Figura 12. IL-1 β **Figura 13. IL-6**

Figura 14. TNF- α **Figura 15. IL-10**

6. Discussão

Este estudo apresenta terapias para áreas de crescimento gengival em usuários de ortodontia fixa, cujos participantes são adolescentes, que representam um desafio do ponto de vista da manutenção da higiene oral. (Le Fouler *et al.*, 2021, Jurišić *et al.*, 2018)

A metodologia utilizada apresenta um tempo de acompanhamento de 30 dias. Na prática clínica é usual que as consultas ortodônticas aconteçam de 30 em 30 dias, este tempo permite avaliar o paciente em sua rotina de consultas e foi seguido por diversos autores. (Vani *et al.*, 2021; Al Nazeah *et al.*, 2020; Baeshen *et al.*, 2020; Alshahrani *et al.*, 2020)

Optamos pelo modelo de boca dividida para avaliar a eficácia da aPDT enquanto adjuvante a raspagem nos parâmetros clínicos e inflamatórios no mesmo participante, (Kellesariam *et al.* 2016; Stein *et al.*, 2018) reduzindo a variação nos hábitos de higiene oral.

Os hábitos de higiene oral em adolescentes são relevantes ao considerar o crescimento gengival durante o uso do aparelho ortodôntico (Le Fouler *et al.*, 2021; Pinto *et al.*, 2017; Jurišić *et al.* 2018), pois a partir do momento em que os cuidados com a higiene não são aplicados corretamente e a disbiose progride, passa-se a considerar a intervenção clínica para controle de biofilme e redução da inflamação. Consideramos como terapias à serem testadas no controle clínico e inflamatório neste estudo o tratamento padrão-ouro, que é a raspagem e a aPDT como terapia adjuvante. (Kumar, 2019; Katsikanis *et al.*, 2020; Jiang *et al.*, 2021)

Jiang *et al.* (2021) afirma que o tratamento com raspagem seria mais efetivo em adolescentes que fazem uso de aparelho ortodôntico fixo se realizado mensalmente ou trimestralmente, do que se realizado a cada 6 meses. Deste modo, terapias adjuvantes que possam otimizar e prolongar os tempos entre as raspagens periodontais devem ser testadas.

A aPDT foi a terapia adjuvante de eleição, já que há referências na literatura que esta técnica associada ao ultrassom em áreas de inflamação gengival e crescimento gengival em adolescentes em uso de aparelho ortodôntico tem

demonstrado melhores resultados quando comparado apenas ao uso do ultrassom. (Algerban *et al.*, 2020; Alshahrani *et al.*, 2020)

Contudo, percebeu-se que os parâmetros clínicos para aPDT não são homogêneos. Os estudos que utilizaram FS da classe das fenotiazinas por exemplo, tem concentrações que variam de 71 a 94%, essas limitações dificultam a comparação do uso da aPDT. Estudos com protocolos de irradiação e FS baseados em conhecimento fotoquímico melhorariam a comparação dos dados. (Moro *et al.*, 2021)

Acredita-se que o uso da fenotiazina associado a luz no comprimento de onda vermelho seja confiável para minimizar o risco de doenças periodontais durante o tratamento ortodôntico, mas novos estudos devem ser realizados na busca de aprimorar os protocolos já existentes. À exemplo, um estudo que utilizou o tempo de pré-irradiação do FS de 5 minutos, refere que esse tempo é excessivo para a prática clínica. (Soares *et al.*, 2019) Nosso estudo traz o tempo de pré-irradiação de 1 minuto, sendo relevante para a praticidade na aplicação clínica, já que não é necessário reaplicar o produto diversas vezes pela presença de fluido da cavidade oral ou sulco gengival. (Alvarenga *et al.*, 2015)

Utilizamos a aplicação do laser de diodo transgengival – por contato. Estudos sugerem que a aplicação transgengival representa uma nova modalidade de aPDT e seu uso justifica-se pela dificuldade em inserir outras pontas no sulco gengival, como as fibras ópticas, que são bastante maleáveis. (Wenzler *et al.*, 2019; Schär *et al.*, 2020)

Há referência que o laser utilizado deva ter a potência mínima de 40mW para a ativação do corante em aplicação transgengival, nosso modelo de laser de diodo utilizado é o Therapy EC[®] da DMC, que tem P= 100mW. (Wenzler *et al.*, 2019; Schär *et al.*, 2020)

Após tratar da metodologia empregada, nossos resultados demonstram por meio dos dados demográficos e econômicos a caracterização da população estudada. A WHO (2013) refere que a faixa etária de 15 a 19 anos é importantíssima para avaliação da condição periodontal em adolescentes, nosso estudo trouxe a mediana de 15 anos. O Ministério da Saúde (2020) entende que

esta faixa etária é a mais representativa para usuários de aparelho ortodôntico. A amostra deste estudo foi caracterizada em 70% por estudantes do ensino médio, 55% se declararam leucoderma, 60% eram do sexo feminino e 40% masculino. Este estudo apresentou em seus resultados a classificação por sexo - feminino ou masculino, não foi incluída a classificação por gênero, sendo sugerido para próximos estudos. (Clayton, Tannenbaum, 2016)

Zannatta *et al.* (2014) não encontraram associação com as características sociodemográficas e o crescimento gengival, refere estar mais relacionada a gengivite e ao excesso de resina na base do bráquete. Mas seu estudo, assim como o nosso, foi composto por adolescentes de instituições privadas, nossa distribuição foi homogênea com relação a renda familiar, (75%) entre 3 e 5 salários-mínimos. E embora as características demográficas e econômicas não sejam referidas como capazes de aumentar o crescimento gengival, a condição bucal, sim.

Sobre a condição bucal em nosso estudo, (50%) dos participantes da amostra referiram escovar os dentes apenas 2 vezes/dia, (70%) não utilizam fio dental, (65%) não utilizam escova interdental e (20%) apresentam lesões de cárie. Ou seja, a higiene oral deficiente é representativa nesta amostra de adolescentes em uso de aparelho ortodôntico e que possuem crescimento gengival.

O biofilme é mais bem controlado naqueles indivíduos que tem o hábito de escovar adequadamente os dentes, que fazem uso de escovas interdentais e fio dental. (Alsharani *et al.*, 2020; Abellán *et al.*, 2019; Islam *et al.*, 2014)

O tempo de uso de aparelho também parece interferir na condição do crescimento gengival. Em nosso estudo e no de Vincent-Bugnas *et al.* (2021) a mediana de tempo de uso de aparelho foi de 2 anos, o crescimento gengival já era evidente conforme observado pela PCS e a gengivite pelo IG. Nossos achados se enquadram na prevalência referida por Pinto *et al.* (2017), em que o crescimento gengival seria maior entre 1 e 3 anos.

Entretanto, alguns autores que avaliaram o crescimento gengival em adolescentes em uso de aparelho não consideraram esse tempo e os participantes tinham em média 8 meses de tratamento (Alsharani *et al.*, 2020)

Os adolescentes com gengivite do estudo de Baeshen *et al.* (2020) também tinham em média o tempo de uso de ortodontia fixa de 8 a 10 meses e já era possível perceber hábitos de escovação não efetivos e diversos sítios inflamados.

A maior parte dos nossos participantes utilizou bráquetes convencionais com ligaduras elastoméricas (95%) e o material foi aço inoxidável (100%). O tipo e o material não faziam parte dos nossos critérios de inclusão, entretanto percebe-se que os bráquetes convencionais são os mais utilizados, justamente com ligaduras elastoméricas, que parecem acumular mais biofilme que ligaduras metálicas (Vincent-Bugnas *et al.*, 2021). É interessante observar que não houve participantes nem mesmo para fazer parte da triagem deste estudo que estivessem em uso de bráquetes cerâmicos/ estéticos, talvez pelo maior valor do produto ou ainda pela possibilidade do fator estético desse tipo de bráquete colaborar com o engajamento nas práticas de higiene e haver menor crescimento gengival, como em alguns estudos. (Jurišić *et al.* 2018; Vincent-Bugnas *et al.*, 2021)

Com relação às variáveis clínicas deste estudo, os achados apontam que houve melhora em T1 após o tratamento tanto com a raspagem quanto com a raspagem associada aPDT. Ambos os grupos (controle e experimental) tiveram o IP diminuídos em 30 dias ($p=0,001$ e $0,003$). Era esperado que se houvesse a diminuição do IP seria nos dois grupos, pois trata-se de um estudo de boca dividida.

Vincent-Bugnas (2021) referem que a quantidade de biofilme não seria um fator determinante para o desenvolvimento do crescimento gengival. Entretanto, nossa amostra foi composta por participantes com higiene oral deficiente, representativa para acúmulo de biofilme e observamos que a remoção deste, permitiu uma redução no crescimento gengival. Infere-se que a melhora no IP foi proporcional a melhora no IG, na PCS e PCS por sítio, que caracteriza o crescimento gengival em nosso estudo.

Alsharani *et al.* (2020) realizaram um ensaio clínico de acompanhamento em 2 semanas e em 30 dias, com 26 adolescentes com crescimento gengival em uso de aparelho. Assim como em nosso estudo não encontraram diferença com

significância estatística na PCS em 4 semanas ao tratar com aPDT e raspagem, porém em 2 semanas a aPDT pareceu reduzir mais a profundidade que o grupo que recebeu apenas raspagem. Seria interessante verificar os parâmetros antes dos 30 dias, para diagnóstico de melhora na PCS com o tratamento Experimental mais rapidamente.

A PCS nem sempre é uma variável tão sensível a tratamentos convencionais não invasivos e em alguns casos necessita de reparo cirúrgico. (Chapple *et al.*, 2018; Lione *et al.*, 2020) Nossos resultados demonstram boa efetividade no controle do crescimento gengival em adolescentes em uso de aparelho ortodôntico utilizando terapias convencional e adjuvante não invasivas.

Há necessidade de estudos que demonstrem os resultados em sítios com maiores graus de inflamação (Alqerban *et al.*, 2020), exatamente como em nosso estudo, que traz os 8 sítios com maior grau de crescimento gengival, a PCS por sítio. Em ambos os grupos a PCS por sítio apresenta-se diminuída ($p < 0,001$ e $p < 0,001$) em 30 dias. Já para o NCI não houve diferença nem entre tempos, nem entre grupos, sendo uma variável mais sensível para casos de periodontite.

O IG demonstrou diminuição do sangramento nos dois grupos ($p < 0,001$ e $p = 0,001$) mas não houve diferença entre eles. Abellàn *et al.* (2019) e Gómez *et al.* (2018) também não encontram diferença estatística entre os grupos tratados com aPDT e ultrassom em adolescentes com gengivite, para as variáveis clínicas.

Um estudo que avaliou 22 pacientes adolescentes com gengivite em uso de aparelho ortodôntico no seguimento de 30 dias (Al Nazeh *et al.*, 2020) e outro com 33 participantes nas mesmas condições e no mesmo tempo (Baeshen *et al.*, 2020) apresentaram significância na redução dos parâmetros de IG e IP, mas também não houve diferença entre os grupos tratados com aPDT adjuvante e o grupo que recebeu raspagem com ultrassom, outros autores (Alqerban, *et al.*, 2020; Abellàn *et al.*, 2019 e Gómez *et al.*, 2018) não observaram diferença entre os grupos nos parâmetros IG, IP e PCS. Os achados destes autores corroboram com os nossos ao afirmar que o uso do ultrassom, é efetivo na inflamação gengival, o fato de haver a remoção mecânica do biofilme parece melhorar os padrões clínicos dos adolescentes em uso de aparelho. (Al Nazeh *et al.*, 2020;

Baeshen *et al.*, 2020; Algerban *et al.*, 2020; Abellàn *et al.*, 2019 e Gómez *et al.*, 2018; Malik, Alkadi, 2020)

E quando se fala dos desfechos inflamatórios, Gong *et al.* (2011), refere que a presença de citocinas pró-inflamatórias pode estar relacionada ao desenvolvimento do crescimento gengival durante o uso do aparelho.

No estudo atual observou-se que houve uma importante diminuição com significância estatística nos valores de TNF- α ($p=0,001$) e IL-6 (0,003) no grupo Experimental (aPDT + ultrassom) em 30 dias, não observada no grupo Controle. Entretanto, na comparação entre os dois grupos há tendência para diminuição de TNF- α ($p=0,087$) no grupo tratado com aPDT associada ao ultrassom, sem significância.

Para Kamran *et al* (2019) IL-6 e TNF- α também apareceram reduzidas no grupo experimental em 3 semanas e voltaram a subir em 6 semanas, eles utilizaram clorexidina 2 vezes na semana durante o acompanhamento e os participantes receberam OHB no início, o que pode ter influenciado nos resultados. Baeshen *et al.* (2020) referem redução nos níveis de IL-6 e TNF- α , também sem diferença estatística entre os grupos experimental e controle, contudo IL-6 apareceu diminuída em 7 dias e TNF- α em 4 semanas.

Nossos resultados e os de Baeshen *et al.* (2020), corroboram com o estudo de Abellàn *et al.* (2019) em que ao comparar os grupos controle e experimental houve tendência na diminuição de TNF- α , sem significância estatística. Ressalto que o estudo de Abellàn *et al.* (2019) realizou mais sessões de aPDT. A tendência à diminuição da citocina TNF- α no grupo experimental em relação ao controle neste estudo e em outros (Baeshen *et al.*, 2020; Abellàn *et al.*, 2019) deve ser analisada com cautela, considerando o número reduzido das amostras e tempo de acompanhamento. Bergamo *et al.* (2017) referem que TNF- α teria sua expressão mais elevada quanto maior concentração de bactérias. Considerando a informação acima, ao realizar a raspagem mecânica e reduzir a quantidade de microrganismos intra-sulco com a aPDT, a tendência de redução de TNF- α poderia ser considerada para investigação em estudos futuros sobre a eficácia da aPDT na regulação inflamatória.

Por sua vez, IL-1 β tem papel importante na regulação das reações imunológicas e poderia ser considerada como um dos fatores de risco para o desenvolvimento do crescimento gengival durante o tratamento ortodôntico. Para Gong *et al* (2011) em 4 semanas após o tratamento periodontal convencional houve redução de IL-1 β . Em nosso estudo IL-1 β aparece diminuído no grupo experimental ($p=0,009$) em relação ao grupo controle ($p=0,363$), porém ambos não demonstram significância na redução em 30 dias ($p=0,875$ e $0,140$). Supõe-se que sua expressão diminuída também possa acontecer previamente ao período analisado de 30 dias.

A citocina regulatória IL-10 não demonstrou diferença nem entre grupos, nem entre tempos em nosso estudo. As referências sobre IL-10 em gengivite e crescimento gengival não foram claras o suficiente sobre o papel dessa interleucina no início da disbiose incipiente. IL-10 tem sido associada a patogênese da periodontite crônica e mesmo em doenças crônicas percebe-se que seu mecanismo regulatório é complexo, parecendo que sua atividade regulatória pode ser mediada por uma população de células imunes inatas, em vez de células epiteliais gengivais. (Sun *et al.*, 2020)

A coleta de citocinas está sujeita a viés, já que o método é sensível e pode haver a contaminação por sangue, saliva e biofilme. (Gujar *et al.*, 2019) Os níveis de citocinas no FCG também seriam discutíveis ao analisar o uso do laser e aPDT para tratar doenças periodontais, uma vez que os parâmetros dosimétricos não seguem o mesmo padrão e o *follow-up* dos estudos costuma ser curto, tanto que em alguns estudos há diminuição de TNF- α , outros de IL-1 β , IL-6, ou mesmo não apresentam redução. Mas apesar desses achados não serem homogêneos, podem ser considerados preliminares e servirem de base para estudos de acompanhamento em diferentes tempos. (Akran *et al.*, 2016)

Nos estudos de acompanhamento e nos de intervenção, pouco tem se falado da regulação dos mediadores inflamatórios em áreas com PCS ≥ 4 mm, como bolsas e pseudobolsas periodontais. Considerando que os patógenos periodontais podem colaborar com a presença de interleucinas no sulco gengival (Andrade *et al.*, 2017; Kellesarian *et al.*, 2016) é relevante avaliar essas variáveis, seja para diagnóstico ou tratamento.

Nosso estudo teve como limitação o tempo de acompanhamento em apenas 30 dias, o acompanhamento de 7 e 21 dias não foi realizado em decorrência da COVID-19, bem como as amostras microbiológicas coletadas não puderam ser analisadas, pois o laboratório de análises manteve-se fechado durante a Pandemia.

Este estudo abordou mais de um aspecto relevante e pouco explorado. O primeiro ponto é o olhar para a odontohebiatria ou mesmo ortohebiatria, percebeu-se ao discorrer sobre a temática e incluir o hebiatra como população estudada, que a literatura atual pouco trata da figura central e do papel do cirurgião dentista enquanto educador. Ressaltamos que é essencial tratar das terapias convencionais e adjuvantes considerando em conjunto as práticas educativas e motivacionais para a higiene oral do adolescente em tratamento ortodôntico. (Le Foulter *et al.*, 2021)

Outro aspecto importante é que grande maioria dos estudos trata da gengivite em usuários de ortodontia fixa, nosso estudo não só aborda a inflamação gengival, como dá ênfase ao crescimento gengival. O crescimento gengival é relevante tanto para as questões da saúde periodontal e estética do adolescente quanto para a clínica do ortodontista, visto que este crescimento em áreas de bráquetes dificulta procedimentos ortodônticos e é evento causal para descontinuidade do tratamento. (Jurišić *et al.* 2018; Vincent-Bugnas *et al.*, 2021)

Uma vez que foi observado redução na citocina pró-inflamatória IL-1 β no grupo experimental em relação ao controle, porém sem significância em 30 dias, bem como tendência a redução de TNF- α na comparação entre grupos, sugere-se outros estudos clínicos em diferentes tempos para elucidar a ação da aPDT no crescimento gengival, outros autores também fazem essa consideração sobre o tempo de acompanhamento. (Al Nazeh *et.al.*, 2020; Baeshen *et al.*, 2020; Vani *et al.*, 2021) Adicionalmente, trazemos a aPDT com parâmetros clínicos inovadores, que podem contribuir para a definição de protocolos.

Por fim, observamos a consagração do tratamento convencional com raspagem com ou sem aPDT, por meio dos nossos desfechos clínicos e inflamatórios. Infere-se que o acúmulo de biofilme no aparelho ortodôntico seja um fator predisponente para o desenvolvimento de crescimento gengival, visto

que a remoção mecânica do biofilme reduziu o IP e conseqüentemente a PCS. Sugere-se para estudos futuros o acompanhamento dos adolescentes em uso de aparelho ortodôntico e crescimento gengival em relação a técnica de escovação e higiene oral, já que este também corresponde a um meio de remoção mecânica do biofilme, embora dependa do paciente.

7. Conclusão

A aPDT adjuvante a Raspagem a e a Raspagem por si só apresentaram efetividade semelhante no tratamento do crescimento gengival em adolescentes em uso de aparelho ortodôntico. Ao avaliar os desfechos clínicos periodontais observou-se melhora em todos os parâmetros em 30 dias, porém não houve diferença entre os grupos. Em relação aos desfechos laboratoriais observou-se redução de TNF- α e IL-6 em 30 dias, tendência de redução de TNF- α no grupo experimental quando comparado ao controle, mas não foi observado efeito adicional da aPDT associada a raspagem.

Referências

Abduljabbar T, Vohra F, Kellesarian SV, Javed F. Efficacy of scaling and root planning with and without adjunct Nd:YAG laser therapy on clinical periodontal parameters and gingival crevicular fluid interleukin 1-beta and tumor necrosis factor-alpha levels among patients with periodontal disease: A prospective randomized split-mouth clinical study. *J Photochem Photobiol B*. 2017 Apr;169:70-74. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.03.001. Epub 2017 Mar 3.

Abellán R, Gómez C, Iglesias-Linares A, Palma CP. Impact of Photodynamic Therapy Versus Ultrasonic Scaler on Gingival Health During Treatment With Orthodontic Fixed Appliances. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2019; 51:256–267. doi: 10.1002/lsm.23035. Epub 2018 Dec 21.

Afacan B, Öztürk ÖV, Paşalı C, Bozkurt E, Köse T, Emingil G. Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 α , VEGF, and TNF- α levels in periodontal health and disease. *J Periodontol*. 2019 Jul;90(7):788-797. doi: 10.1002/JPER.18-0412. Epub 2018 Dec 11.

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

Akram Z, Abduljabbar T, Sauro S, Daood Umer. 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 Photodyn Ther*. 2016 Dec;16:142-153. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.09.004. Epub 2016 Sep 9.

Alqerban A. Efficacy of antimicrobial photodynamic and photobiomodulation therapy against *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* and human beta defensin-2 levels in patients with gingivitis undergoing fixed orthodontic treatment: A clinic-laboratory study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Mar;29:101659. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101659. Epub 2020 Jan 13.

Al Nazeh A, Alshahrani AA, Almoammar S, Kamran MA, Togoo RA, Alshahrani I. Application of photodynamic therapy against periodontal bacteria in established gingivitis lesions in adolescent patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Sep;31:101904. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101904. Epub 2020 Jul 1.

Alshahrani A, Togoo RA, Kamran MA, Alshahrani I. Clinical periodontal, bacterial, and immunological outcomes of antimicrobial photodynamic therapy in orthodontic treatment-induced gingival enlargement. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Sep;31:101934. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101934. Epub 2020 Jul 29.

Al-Shammery D, Michelogiannakis D, Ahmed ZU, Ahmed HB, Rossouw PE, Romanos GE, Javed F. Scope of antimicrobial photodynamic therapy in Orthodontics and related research: A review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019 Mar;25:456-459. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.02.011. Epub 2019 Feb 10.

Alvarenga LH, Gomes AC, Carribeiro P, Godoy-Miranda B, Noschese G, Ribeiro MS, et al. Parameters for antimicrobial photodynamic therapy on periodontal

pocket-Randomized clinical trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019 Sep;27:132-136. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.05.035. Epub 2019 May 29.

Alvarenga LH, Prates RA, Yoshimura TM, Kato IT, Suzuki LC, Ribeiro MS, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans biofilm can be inactivated by methylene blue-mediated photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015 Mar;12(1):131-5. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.10.002. Epub 2014 Oct 22.

Alvarenga LH, Ribeiro MS, Kato IT, Nunez SC, Prates RA, Evaluation of red light scattering in gingival tissue – in vivo study, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (2018). doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.05.016. Epub 2018 May 26.

Andrade PVC, Alves VTE, Carvalho VF, Rodrigues MF, Pannuti CM, Holzhausen M, et al. Photodynamic therapy decrease immune-inflammatory mediators levels during periodontal maintenance. *Lasers Med Sci.* 2017 Jan;32(1):9-17. doi: 10.1007/s10103-016-2076-7. Epub 2016 Oct 4.

Baeshen HA, Alshahrani A, Kamran MA, Alnazeh AAA, Alhaizaey A, Alshahrani I. Effectiveness of antimicrobial photodynamic therapy in restoring clinical, microbial, proinflammatory cytokines and pain scores in adolescent patients having generalized gingivitis and undergoing fixed orthodontic treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Dec;32:101998. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101998. Epub 2020 Sep 8.

Bergamo AZN, Nelson-Filho P, Nascimento C, Casarin RCV, Casati MZ, Andruccioli ACD, et al. Cytokine profile changes in gingival crevicular fluid after placement different brackets types. *Arch Oral Biol.* Jan 2018; 85: 79-83. doi: 10.1016 / j.archoralbio.2017.09.022. Epub 2017, 25 de setembro.

Benov L. Photodynamic therapy: current status and future directions. *Med Princ Pract.* 2015;24 Suppl 1:14-28. doi: 10.1159/000362416. Epub 2014 May 10.

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.

Bonetti GA, Parenti SI, Ippolito D R, Gatto MR, Checchi L. Effects of ultrasonic instrumentation with different scaler-tip angulations on the shear bond strength and bond failure mode of metallic orthodontic brackets. *Korean J Orthod.* 2014 Jan; 44(1): 44–49. Published online 2014 Jan 17. doi: 10.4041/kjod.2014.44.1.44

Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman K, L, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018 Jun;45 Suppl 20:S1-S8. doi: 10.1111/jcpe.12935.

Cecatto RB, Magalhães LS, Rodrigues MFSD, Pavani C, Lino-Dos-Santos-Franco A, Gomes MT, Silva DFT. Methylene blue mediated antimicrobial photodynamic therapy in clinical human studies: The state of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Sep;31:101828. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101828. Epub 2020 May 28.

Cerroni S, Pasquantonio G, Condò R, Cerroni L. Orthodontic Fixed Appliance and Periodontal Status: An Updated Systematic Review. *Open Dent J.* 2018 Sep 28;12:614-622. doi: 10.2174/1745017901814010614. eCollection 2018.

Chapple ILC, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018 Jun;89 Suppl 1:S74-S84. doi: 10.1002/JPER.17-0719.

Chhibber A, Agarwal S, Yadav S, Kuo CL, Upadhyay M. Which orthodontic appliance is best for oral hygiene? A randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2018 Feb;153(2):175-183. doi: 10.1016/j.ajodo.2017.10.009.

Clayton JA, Tannenbaum C. Reporting Sex, Gender, or Both in Clinical Research? *JAMA.* 2016 Nov 8;316(18):1863-1864. doi: 10.1001/jama.2016.16405.

Folco AA, Benítez-Rogé SC, Iglesias M, Calabrese D, Pelizardi C, Rosa A, Brusca MI, Hecht P, Mateu ME. Gingival response in orthodontic patients: Comparative study between self-ligating and conventional brackets. *Acta Odontol Latinoam.* 2014;27(3):120-4. doi: 10.1590/S1852-48342014000300004.

Gatto RCJ, Garbin AJI, Corrente JE, Garbin CAS. The relationship between oral health-related quality of life, the need for orthodontic treatment and bullying, among Brazilian teenagers. *Dental Press J Orthod.* 2019 May 20;24(2):73-80. doi: 10.1590/2177-6709.24.2.073-080.oar.

Gómez C, Abellán R, Palma JC. Efficacy of photodynamic therapy vs ultrasonic scaler for preventing gingival inflammation and white spot lesions during orthodontic treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018 Dec;24:377-383. doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.11.001. Epub 2018 Nov 3.

Gong Y, Lu J, Ding X. Clinical, microbiologic, and immunologic factors of orthodontic treatment-induced gingival enlargement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Jul;140(1):58-64. doi: 10.1016/j.ajodo.2010.02.033.

Gujar AN, Baeshen HA, Alhazmi A, Bhandi S, Raj A T, Patil S, Birkhed D. Cytokine levels in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment with aligners compared to conventional labial fixed appliances: a 3-week clinical study. *Acta Odontol Scand.* 2019 Aug;77(6):474-481. doi: 10.1080/00016357.2019.1607548. Epub 2019 Apr 26.

Hamblin MR, Abrahamse H. Can light-based approaches overcome antimicrobial resistance? *Drug Dev Res.* 2019 Feb; 80(1): 48–67. Published online 2018 Aug 2. doi: 10.1002/ddr.21453

Islam ZU, Shaikh A, Fida M. Plaque index in multi-bracket fixed appliances. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2014 Nov;24(11):791-5. doi: 11.2014/JCPSP.620623.

Jiang C, Fan C, Xinbo Y, Xu T, Cai J, Fan X, Zhang J. Comparison of the efficacy of different periodic periodontal scaling protocols for oral hygiene in adolescents with fixed orthodontic appliances: A prospective cohort study. *Am J Orthod*

Dentofacial Orthop. 2021 Apr;159(4):435-442. doi: 10.1016/j.ajodo.2020.01.026. Epub 2021 Feb 8.

Jurela A, Repic D, Pejda S, Juric H, Vidakovic R, Matic I, Bosnjak A. The effect of two different bracket types on the salivary levels of *S mutans* and *S sobrinus* in the early phase of orthodontic treatment. *Angle Orthod*. 2013 Jan;83(1):140-5. doi: 10.2319/030612-187.1. Epub 2012 Jul 5.

Jurišić S, Verzak Ž, Jurišić G, Jurić H. Assessment of efficacy of two chlorhexidine mouthrinses on oral hygiene and gingival health in adolescents wearing two types of orthodontic brackets. 2018 May;16(2):52-57.

Kadam P, Bhalerao S. Sample size calculation. *Int J Ayurveda Res*. 2010 Jan-Mar; 1(1): 55–57. doi: 10.4103/0974-7788.59946

Kamran MA. Clinical, microbiological and immunological outcomes with photodynamic therapy as an adjunct to full-mouth scaling in patients undergoing fixed orthodontic treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020 Mar;29:101585. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.101585. Epub 2019 Nov 2.

Katsikanis F, Strakas D, Vouros I. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT, 670 nm) and diode laser (940 nm) as adjunctive approach in the conventional cause-related treatment of chronic periodontal disease: a randomized controlled split-mouth clinical trial. *Randomized Controlled Trial Clin Oral Investig*. 2020 May;24(5):1821-1827. doi: 10.1007/s00784-019-03045-1. Epub 2019 Aug 13.

Kellesarian SV, Malignaggi VR, Abduljabbar T, Vohra F, Malmstrom H, Romanos GE, et al. Efficacy of scaling and root planing with and without adjunct antimicrobial photodynamic therapy on the expression of cytokines in the gingival crevicular fluid of patients with periodontitis: A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2016 Dec;16:76-84. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.08.009. Epub 2016 Sep 5.

Kumar S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. *Dent Clin North Am*. 2019 Jan;63(1):69-81. doi: 10.1016/j.cden.2018.08.005. Epub 2018 Oct 29.

Le Fouler A, Jeanne S, Sorel O, Brézulier D. How effective are three methods of teaching oral hygiene for adolescents undergoing orthodontic treatment? The MAHO protocol: an RCT comparing visual, auditory and kinesthetic methods. *Trials*. 2021 Feb 15;22(1):144. doi: 10.1186/s13063-021-05093-z.

Lione R, Pavoni C, Noviello A, Clementini M, Danesi C, Cozza P. Conventional versus laser gingivectomy in the management of gingival enlargement during orthodontic treatment: a randomized controlled trial. *Eur J Orthod*. 2020 Jan 27;42(1):78-85. doi: 10.1093/ejo/cjz032.

Longo PL, Artese HP, Horliana AC, Gomes GH, Romito GA, Dib SA, Mayer MP. Inflammatory markers in gingival crevicular fluid of periodontitis patients with type 2 diabetes mellitus according to glycemic control: A pilot study. *Dent Res J (Isfahan)*. 2015 Sep-Oct;12(5):449-55.

Malik NKA, Alkadhi OH. Effectiveness of mechanical debridement with and without antimicrobial photodynamic therapy against oral yeasts in children with gingivitis undergoing fixed orthodontic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Sep;31:101768. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101768. Epub 2020 Apr 17.

Ministério da Saúde. Projeto SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal –Resultados Principais. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Atenção Básica Coordenação Geral de Saúde Bucal 2011.

Ministério da Saúde. Projeto SB Brasil 2020: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal-Projeto Técnico. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção Primária à Saúde Departamento de Atenção Básica Coordenação-Geral de Saúde Bucal.

Moro MG, Carvalho VF, Godoy-Miranda BA, Kassa CT, Horliana ACRT, Prates RA. Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) for nonsurgical treatment of periodontal disease: a systematic review. *Lasers Med Sci.* 2021 Oct;36(8):1573-1590. doi: 10.1007/s10103-020-03238-1. Epub 2021 Jan 12.

Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *J Periodontol.* 2018 Jun;89 Suppl 1:S17-S27. doi: 10.1002/JPER.17-0095.

Naruishi K, Nagata T. Biological effects of interleukin-6 on Gingival Fibroblasts: Cytokine regulation in periodontitis. *J Cell Physiol.* 2018 Sep;233(9):6393-6400. doi: 10.1002/jcp.26521. Epub 2018 Mar 25.

Pachevska AV, Filimonov YV, Filimonov VY, Dudik OP, Popova OI, Drachuk NV, Kasianenko DM, Biloshitska AV, Istoshyn VM. Clinical and laboratory assessment the levels of oral hygiene, total protein, hydrogen sulfide and nitrogen metabolites in oral fluid in the development of inflammatory complications during orthodontic treatment of children. *Wiad Lek.* 2019;72(5 cz 1):744-747.

Pan S, Liu Y, Si Y, Zhang Q, Wang, Liu J, Wang C, Xiao S. Prevalence of fimA genotypes of *Porphyromonas gingivalis* in adolescent orthodontic patients. *PLoS One.* 2017 Nov 27;12(11):e0188420. doi: 10.1371/journal.pone.0188420. eCollection 2017.

Panhóca VH, Esteban Florez FL, Corrêa TQ, Paolillo FR, de Souza CW, Bagnato VS. Oral Decontamination of Orthodontic Patients Using Photodynamic Therapy Mediated by Blue-Light Irradiation and Curcumin Associated with Sodium Dodecyl Sulfate. *Photomed Laser Surg.* 2016 Sep;34(9):411-7. doi: 10.1089/pho.2015.4080. Epub 2016 Jul 25.

Paschoal MA, Moura CMZ, Jeremias F, Souza JF, Bagnato VS, Giusti JSM, Santos-Pinto L. Longitudinal effect of curcumin-photodynamic antimicrobial chemotherapy in adolescents during fixed orthodontic treatment: a single-blind randomized clinical trial study. *Randomized Controlled Trial Lasers Med Sci.* 2015 Nov;30(8):2059-65. doi: 10.1007/s10103-014-1700-7. Epub 2014 Dec 28.

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

Pinto AS, Alves LS, Zenkner JEA, Zanatta FB, Maltz M. Gingival enlargement in orthodontic patients: Effect of treatment duration. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2017 Oct;152(4):477-482. doi: 10.1016/j.ajodo.2016.10.042.

Rajesh S, Koshi E, Philip K, Mohan A. Antimicrobial photodynamic therapy: an overview. *J of Indian Soc of Periodontol* 2011 Oct-Dec;15(4):323-327.

Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Effects of fixed orthodontic appliances on subgingival microflora. *Int J Dent Hyg.* 2008 May;6(2):129-36. doi: 10.1111/j.1601-5037.2008.00283.x.

Schär D, Ramseier CA, Eick S, Mettraux G, Salvi GE, Sculean A. Transgingival photodynamic therapy (tg-aPDT) adjunctive to subgingival mechanical instrumentation in supportive periodontal therapy. A randomized controlled clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Dec;32:101971. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101971. Epub 2020 Aug 21.

Schulz k, Altman DG, Moher D, CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Trials.* 2010 Mar 24;11:32. doi: 10.1186/1745-6215-11-32.

Soares LGP, Crugeira PJJ, Nunes IPF, Santos AS, Cangussú MCT, de Almeida PF, Pinheiro ALB, Habib FAL. Oral Microbiological Control by Photodynamic Action in Orthodontic Patients. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019 Dec;28:221-225. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.08.002. Epub 2019 Aug 5.

Stein S, Schauseil M, Hellak A, Korbmacher-Steiner H, Braun A. Influence of Photobiomodulation Therapy on Gingivitis Induced by Multi-Bracket Appliances: A Split-Mouth Randomized Controlled Trial. *Randomized Controlled Trial Photomed Laser Surg.* 2018 Aug;36(8):399-405. doi: 10.1089/pho.2017.4404. Epub 2018 May 18.

Sun L, Girnary M, Wang L, Jiao Y, Zeng E, Mercer JZ, et al. IL-10 Dampens an IL-17-Mediated Periodontitis-Associated Inflammatory Network. *J Immunol.* 2020 Apr 15;204(8):2177-2191. doi: 10.4049/jimmunol.1900532. Epub 2020 Mar 13.

Teymouri F, Farhad SZ, Golestaneh H. The Effect of Photodynamic Therapy and Diode Laser as Adjunctive Periodontal Therapy on the Inflammatory Mediators Levels in Gingival Crevicular Fluid and Clinical Periodontal Status. *J Dent (Shiraz).* 2016 Sep;17(3):226-32.

Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol.* 2018 Jun;45 Suppl 20:S44-S67. doi: 10.1111/jcpe.12939.

Vani SVK, Ziauddin S, Geetika S, Lakshmikar ROGG, Bindu PS, Naveen M. Comparison of laser therapy and ozonated water on gingival inflammation in orthodontic patients with fixed appliances. *J Clin Transl Res.* 2021 Sep 27;7(5):625-630. eCollection 2021 Oct 26.

Vera C, Tulli F, Borsarelli CD. Photosensitization With Supramolecular Arrays for Enhanced Antimicrobial Photodynamic Treatments. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021; 9: 655370. Published online 2021 Jul 7. doi: 10.3389/fbioe.2021.655370

Verrusio C, Iorio-Siciliano V, Blasi A, Leuci S, Adamo D, Nicolò M. The effect of orthodontic treatment on periodontal tissue inflammation: A systematic review. *Quintessence Int.* 2018;49(1):69-77. doi: 10.3290/j.qi.a39225.

Vincent-Bugnas S, Borsa L, Gruss A, Lupi L. Prioritization of predisposing factors of gingival hyperplasia during orthodontic treatment: the role of amount of biofilm. *BMC Oral Health.* 2021 Feb 24;21(1):84. doi: 10.1186/s12903-021-01433-2.

Wainwright M, Antczak J, Baca M, Loughran C, Meegan K. Phenothiazinium photoantimicrobials with basic side chains. *J Photochem Photobiol B* 2015; 150:38-43.

Wenzler JS, Böcher S, Frankenberger R, Braun A. Feasibility of transgingival laser irradiation for antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019 Dec;28:75-79. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.08.030. Epub 2019 Aug 27.

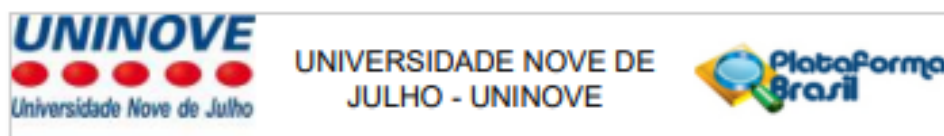
Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiol Immunol.* 1993 Jun;8(3):182-7.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Oral health surveys: basic methods.* 5th ed. Geneva: World Health Organization. 2013. 125 p.

Zanatta FB, Ardenghi TM, Antoniazzi RP, Pinto TM, Rösing CK. Association between gingivitis and anterior gingival enlargement in subjects undergoing fixed orthodontic treatment. *Dental Press J Orthod.* May-Jun 2014;19(3):59-66. doi: 10.1590/2176-9451.19.3.059-066.oar.

8. Anexos

ANEXO 8.1



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA E DA RASPAGEM EM GENGIVITE FACILITADA PELO USO DE APARELHO ORTODÔNTICO FIXO: ESTUDO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO

Pesquisador: ELLEN PERIM ROSA DO NASCIMENTO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 18419619.0.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.505.689

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos Apresentação do projeto, Objetivo da pesquisa, Avaliação dos riscos e benefícios foram retiradas do documento PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1404019.pdf de 04/08/2019.

Resumo:

Sabe-se que a presença de bráquetes ortodônticos predispõe a mudança na quantidade e qualidade de biofilme, devido à dificuldade em realizar a escovação adequadamente. É frequente a presença de hiperplasia gengival associada a má higiene. Esses locais são de difícil acesso à escova dental e cureta periodontal, agravando o quadro de inflamação. A hipótese a ser testada é se a terapia fotodinâmica (do inglês Photodynamic Therapy – PDT) pode favorecer a descontaminação dessas áreas, uma vez que o fotossensibilizador e a luz são capazes de atingir áreas em que esses instrumentos têm dificuldade de acessar. Sendo assim, o objetivo deste estudo será avaliar o impacto da PDT como adjuvante à raspagem, nos parâmetros clínicos imunorregulatórios e microbiológicos em participantes portadores de gengivite tendo como fator predisponente o uso de aparelho fixo. Neste ensaio clínico de superioridade randomizado, controlado, duplo-cego serão incluídos 34 pacientes, ambos os gêneros, que utilizam aparelho fixo há mais de 12 meses com gengivite instalada. Os pacientes serão alocados em 2 grupos e

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

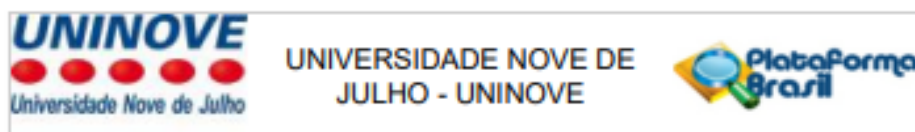
CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comiteetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 3.555.689

tratados por um único pesquisador:

Grupo controle (n=17) - Raspagem e alisamento radicular (RAR) + placebo da PDT e Grupo experimental (n=17) – RAR + PDT. No G2 será utilizado o azul de metileno 0,005%, =660nm, 9J por sítio inflamado, irradiância= 3,5W/cm, exposição radiante= 318J/cm². No G1 a raspagem será realizada com auxílio de curetas e ultrassom. Todos os participantes receberão orientação de higiene oral (OHB) imediatamente antes da realização da RAR. Serão analisados os dados clínicos periodontais: índice de placa (IP), índice gengival (IG) e profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção (NCI) por meio de sonda periodontal. Serão coletados fluido crevicular (8 sítios pré determinados) e saliva não estimulada para análise das citocinas IL-6, IL-1, IL-8, TNF- e IL-10 pelo método de ELISA. Também será realizada a contagem Universal das bactérias (gene 16SrRNA) por PCRq das mesmas secreções. Todas as análises serão realizadas no baseline (T0), 7 (T1) e 21 (T2) dias após o tratamento. A qualidade de vida relacionada a saúde bucal (QVRS) será avaliada por meio do questionário OHIP-14. Nos tempos T0 e T2. Caso haja normalidade da amostra, será utilizado o teste T de Student para comparar as médias das variáveis contínuas e dependentes. Caso a distribuição não seja normal será utilizado o teste de Mann Whitney. Os dados serão apresentados por suas médias \pm dp e o valor de p será definido em 0,05.

Hipótese:

Hipótese nula: A PDT associada ao tratamento periodontal não é eficaz no tratamento da gengivite (hiperplasia gengival) causada pela má higiene associada ao uso do aparelho ortodôntico em pacientes jovens saudáveis. Hipótese experimental: A PDT associada ao tratamento periodontal é eficaz no tratamento da gengivite (hiperplasia gengival) causada pela má higiene associada ao uso do aparelho ortodôntico em pacientes jovens saudáveis.

Objetivo da Pesquisa:

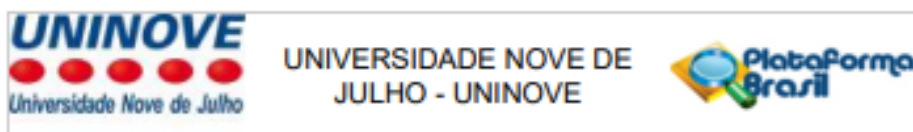
Objetivo Primário:

Avaliar parâmetros clínicos periodontais (Índice gengival) por meio de sonda periodontal no baseline e após 7 e 21 dias de acompanhamento.

Objetivo Secundário:

- Avaliar Índice de placa visível.
- Avaliar Nível clínico de inserção.
- Avaliar Profundidade clínica de sondagem
- Dosar citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6 e IL8, TNF) e anti-inflamatória (IL-10) na saliva e no

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 3.525.689

fluido crevicular no baseline e após 7 e 21 dias de acompanhamento.

- Avaliar a contagem Universal das bactérias (gene 16SrRNA) por PCRq na saliva e no fluido crevicular no baseline e após 7 e 21 dias.
- Mensurar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal e relacionar com a gengivite (QVRS).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A aplicação da luz/laser não causa dor, nem costuma causar nenhum outro sintoma ou efeito colateral. Você usará um óculos de proteção para proteger seus olhos da luz. Se você sentir algum desconforto, decorrente da utilização da luz, o tratamento será suspenso. O tratamento com curetas será feito nos dentes acima da linha da gengiva, reduzindo a possibilidade de desconforto, o sangramento costuma ocorrer em casos de gengivite, até mesmo durante a escovação habitual. Medidas protetivas aos riscos: A limpeza que será realizada não é diferente da limpeza realizada em qualquer consultório odontológico. A única diferença é que se você for escolhido para o grupo com tratamento com PDT haverá um tratamento adicional para remover bactérias de locais de mais difícil acesso (locais onde a escova de dente tem dificuldade de alcançar) com o fotossensibilizador associado a luz. Se for comprovado o benefício desse tratamento e você não tiver recebido, poderá recebê-lo ao final da pesquisa nas áreas que ainda houver inflamação. Mesmo assim a equipe estará preparada e disponível para atender qualquer desconforto e queixa decorrentes dos procedimentos da pesquisa, durante ou após a aplicação da luz ou da raspagem. O questionário será realizado em um local reservado para evitar constrangimento.

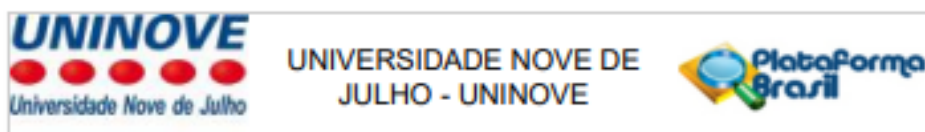
Benefícios:

Esta pesquisa está sendo feita para avaliar se a PDT é um tratamento que pode melhorar a inflamação da gengiva durante o uso de aparelho fixo. Ressaltamos que a gengivite pode causar dor, sangramento, edema (inchaço) na gengiva, sendo necessário em alguns casos severos interromper o tratamento ortodôntico. Portanto o benefício direto a você é a realização da limpeza nos seus dentes e a orientação de higiene para evitar que esse problema aconteça.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa se trata de um estudo para avaliar o efeito da terapia fotodinâmica associada à raspagem em casos de gengivites facilitadas pela utilização de aparelho ortodôntico. A pesquisa é adequada do ponto de vista ético e, apesar de em um dos grupos a aplicação do laser ser simulada (placebo), isso está descrito no TCLE e todos os pacientes receberão o tratamento

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
 Bairro: LIBERDADE CEP: 01.504-001
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3385-0010 E-mail: combedetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 3.505.689

convencional, ou seja, serão tratados independentemente do grupo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos de apresentação obrigatória como o TCLE, Termo de Assentimento, Cronograma, Folha de Rosto e as Cartas de Anuência dos três consultórios nos quais as coletas serão realizadas foram apresentados e estão adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Tendo em vista a legislação vigente devem ser encaminhados para o CEP-UNINOVE relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final utilizando-se a opção "Enviar notificação" disponível na área em que encontra o seu projeto de pesquisa aprovado no campo "lista de apreciações do projeto" mais especificamente na coluna "ações". Qualquer alteração no projeto original aprovado pode ser apresentada com "emenda" desde que não contenha modificação essencial nos objetivos e na metodologia do projeto origina. De forma objetiva com justificativa para nova apreciação e os documentos alterados devem ser evidenciados para facilitar a nova análise.

Considerações Finais a critério do CEP:

Para início da coleta dos dados, o pesquisador deverá se apresentar na mesma instância que autorizou a realização do estudo (Coordenadoria, Supervisão, SMS/Gab, etc).

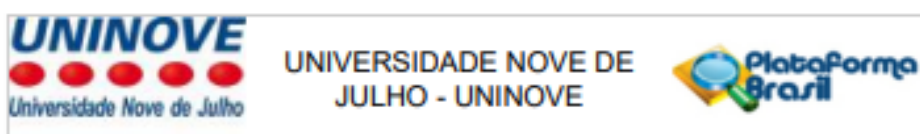
O participante da pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa,

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 3.525.689

contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 Item X1. 2. f).

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital (CD/DVD) do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1404019.pdf	04/08/2019 16:11:17		Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	04/08/2019 14:50:50	ELLEN PERIM ROSA DO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investidor	Projeto.pdf	04/08/2019 14:49:41	ELLEN PERIM ROSA DO NASCIMENTO	Aceito
Outros	cartadeanuencia.jpg	04/08/2019 14:48:49	ELLEN PERIM ROSA DO	Aceito
Outros	carta.jpg	04/08/2019 14:47:20	ELLEN PERIM ROSA DO	Aceito
Outros	CA.jpg	04/08/2019 14:46:56	ELLEN PERIM ROSA DO	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	28/07/2019 12:18:23	ELLEN PERIM ROSA DO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TA.pdf	28/07/2019 12:14:30	ELLEN PERIM ROSA DO NASCIMENTO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	28/07/2019 12:11:46	ELLEN PERIM ROSA DO NASCIMENTO	Aceito

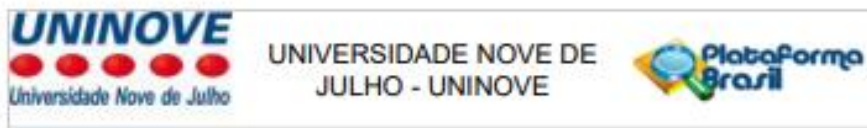
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
 Bairro: LIBERDADE CEP: 01.504-001
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3385-0010 E-mail: comitedetica@uninove.br



Continuação do Passer: 3.525.689

SAO PAULO, 13 de Agosto de 2019

Assinado por:
CHRISTIANE PAVANI
(Coordenador(a))

Endereço: VERGUEIRO nº 235/240
Bairro: LIBERDADE
UF: SP Município: SAO PAULO CEP: 01.504-001
Telefone: (11)3385-9010 E-mail: combeduica@uninove.br

ANEXO 8.2**TCLE - Termo de Consentimento livre e esclarecido para Participação em Pesquisa Clínica**

Nome do participante: _____

Endereço: _____

Telefone para contato: _____ Cidade: _____ CEP: _____

E-mail: _____

1. Título do Trabalho Experimental: Eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana e da raspagem em áreas hiperplásicas gengivais predispostas pelo uso de aparelho ortodôntico fixo: estudo clínico controlado randomizado e duplo-cego (este estudo utilizará um tratamento chamado terapia fotodinâmica (que nada mais é do que a luz associada com um corante que mata bactérias) para o tratamento da gengivite (inflamação na gengiva) que acontece pela dificuldade de escovação por causa do aparelho ortodôntico.

2. Objetivo: Avaliar o impacto da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana ou aPDT (PDT- termo abreviado do inglês Antimicrobial Photodynamic Therapy) como adjuvante à raspagem nos parâmetros clínicos, inflamatórios e microbiológicos em participantes portadores de gengivite tendo como fator predisponente o uso de aparelho fixo. Ou seja, o objetivo é ver se esse tratamento que associa uma luz com um corante para matar as bactérias pode diminuir a inflamação, a quantidade de bactérias que morrem e o aspecto da geral da gengiva

A aPDT nada mais é do que uma luz/laser vermelho aplicada sobre um líquido chamado de azul de metileno, no qual a luz+substância tem ação antimicrobiana (de matar bactérias), ou seja, destrói microorganismos (germes, bactérias), não possui efeitos colaterais, dor ou desconforto) e a Raspagem (limpeza) com curetas (instrumento que o dentista usa para tirar o tártaro) é feita com instrumentos utilizados na remoção de placa bacteriana (sujeira esbranquiçada que adere ao dente) de áreas do dente próximas a gengiva e a raspagem com aparelho ultrassônico (limpeza com ultrassom) é feita por meio de um equipamento com uma ponta que vibra e remove sujidade dos dentes e arredores (em volta) da gengiva.

3. Justificativa: é necessário promover a melhora das condições de vida, por isso o cuidado com a saúde da boca do paciente em tratamento ortodôntico é importante. A terapia fotodinâmica (opção de tratamento para ajudar matar bactérias) precisa ser estudada, pois é uma alternativa de tratamento para alcançar locais da gengiva em que a cureta (instrumento para tirar o tártaro) não consegue chegar. Os tratamentos da gengiva inflamada devem ser estudados para que o tratamento com o aparelho ortodôntico não tenha que ser interrompido. Por isso você está sendo convidado (a) a participar desse projeto de pesquisa.

4. Procedimentos da Fase Experimental: Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa em que o dentista verificará se você está com inflamação na gengiva. Primeiramente, no consultório odontológico o dentista realizará uma avaliação para saber se você tem gengivite,

esta avaliação será feita visualmente e com uma sonda (instrumento sem ponta cortante que é inserido no fundo da gengiva para verificar a profundidade e se há sangramento) pode haver leve desconforto e sangramento, se o resultado for positivo para gengivite você receberá Orientação de Higiene Oral (aprenderá como se escova os dentes e passa o fio dental) e então recolheremos uma amostra da sua saliva (uma colher de sopa de saliva em um pote) e do fluido da gengiva (líquido que sai da gengiva quando ela está inflamada), com auxílio de um canudinho de papel absorvente que encostará na sua gengiva e absorverá um pouco desse líquido, não haverá dor. Faremos um questionário com 14 perguntas que demorarão 10 minutos para responder, você pode ficar um pouco constrangido com algumas perguntas do questionário, mas apenas o pesquisador terá acesso a ele. Nesse momento faremos a limpeza dos seus dentes e como tratamento adicional faremos a PDT (líquido que mata as bactérias+ presença da luz laser) esse tratamento pode trazer um efeito adicional para a morte das bactérias. Se a gengiva estiver muito inflamada pode haver pequeno sangramento local na raspagem com cureta ou mesmo na aplicação do laser junto com o líquido. Após 30 dias será realizada nova coleta de amostra do fluido gengival, da saliva e avaliação gengival com sonda. Essa consulta é importante para ver se a inflamação da sua gengiva foi resolvida. Ou seja, a maioria dos procedimentos estará de acordo com sua rotina mensal de consultas com seu ortodontista.

5.Desconforto ou Riscos Esperados: A aplicação da luz/laser não causa dor, nem costuma causar nenhum outro sintoma ou efeito colateral. Você usará um óculos de proteção para proteger seus olhos da luz. Se você sentir algum desconforto, decorrente da utilização da luz, o tratamento será suspenso. O tratamento com curetas será feito nos dentes acima da linha da gengiva, reduzindo a possibilidade de desconforto, o sangramento costuma ocorrer em casos de gengivite, até mesmo durante a escovação habitual.

6. Medidas protetivas aos riscos: A limpeza que será realizada não é diferente da limpeza realizada em qualquer consultório odontológico. Mesmo assim a equipe estará preparada e disponível para atender qualquer desconforto e queixa decorrentes dos procedimentos da pesquisa, durante ou após a aplicação da luz ou da raspagem. O questionário será realizado em um local reservado para evitar constrangimento.

7. Benefícios da Pesquisa: Esta pesquisa está sendo feita para avaliar se a aPDT é um tratamento que pode melhorar a inflamação da gengiva durante o uso de aparelho fixo. Ressaltamos que a gengivite pode causar dor, sangramento, edema (inchaço) na gengiva, sendo necessário em alguns casos severos interromper o tratamento ortodôntico. Portanto, o benefício direto a você é a realização da limpeza nos seus dentes e a orientação de higiene para evitar que esse problema aconteça.

8. Métodos Alternativos Existentes: não há métodos alternativos existentes. O procedimento padrão ouro é a limpeza (raspagem), e você receberá esse tratamento.

9. Retirada do Consentimento: Você pode desistir de participar da pesquisa em qualquer momento e isso não irá prejudicar seu atendimento no consultório.

10. Garantia do Sigilo: Asseguraremos o compromisso com a privacidade e a confidencialidade dos dados utilizados, preservando integralmente o seu anonimato e a sua imagem. Realizaremos

algumas fotos com uma máquina fotográfica para ilustrar o trabalho, essas fotos ficarão armazenadas em um pendrive, sobre os cuidados da dentista que realizará a pesquisa, as fotos não identificarão você e serão em grande maioria apenas da sua boca, sendo utilizadas na apresentação do trabalho e posteriormente no artigo (que é um trabalho apresentado em uma revista científica digital).

11. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa:

Você não terá despesas extras por participar desta pesquisa.

12. Local da Pesquisa: Consultório Odontológico que você é atendido pelo seu ortodontista.

Dellê Odontologia – Rua Marília de Dirceu, 23, Jardim Aeroporto- São Paulo.

Odontocorpus Odontologia e Saúde – Rua Dr Antonio Ruggiero Junior, 16, Pirituba- São Paulo.

Clínica Fernanda Dias e Equipe – Avenida Mariana Ubaldina do Espírito Santo, 761, Bom Clima – Guarulhos.

13. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12 e Res. CNS 510/2016). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos.

Comitê de Ética da UNINOVE: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 12º andar - Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001 Fone: 3385-9010 comitedeetica@uninove.br Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – Das 11h30 às 13h00 e Das 15h30 às 19h00.

14. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores para Contato:

Dra. Ellen Perim Rosa do Nascimento. Cel: (11) 981007181 e-mail: ellen_perim@hotmail.com e Profa. Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana. Cel: (13) 981999848.

15. Eventuais intercorrências que vierem a surgir no decorrer da pesquisa poderão ser discutidas pelos meios próprios.

São Paulo, de de 20 .

16. Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

Assinatura do Participante (Todas as folhas devem ser rubricadas pelo participante da pesquisa)

17. Eu, _____ (Ellen Perim Rosa do Nascimento),
certifico que:

- a) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;
- b) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;

Ellen Perim Rosa do Nascimento

ANEXO 8.3

TERMO DE ASSENTIMENTO

Gostaríamos de saber se você quer participar da pesquisa “EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA E DA RASPAGEM EM GENGIVITE PREDISPOSTA POR APARELHO ORTODÔNTICO FIXO: ESTUDO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO DUPLO-CEGO”

O adulto responsável por você notou que sua gengiva está um pouco inflamada depois que você colocou aparelho, então ele permitiu que você participe dessa pesquisa para ver se a sua gengiva está inflamada. Gostaríamos de tratar esse problema para você. Se a sua gengiva estiver vermelha, doendo, sangrando e inchada quando nós examinarmos, vamos colocar uma sonda (a sonda é um instrumento que não corta e não tem ponta afiada, como se fosse um palitinho sem ponta afiada) na sua gengiva para ver como ela está. Então vamos ensinar à você como realizar a escovação e o fio dental corretamente. Vamos também, colocar um cone (palitinho sem ponta) de papel na gengiva para saber o quanto a sua gengiva está inflamada. Todo esse material que estamos explicando será mostrado à você antes de começarmos. Então vamos cuidar da inflamação na sua gengiva, vamos realizar uma raspagem (com um instrumento para limpar a sujeira branca que acumula nos seus dentes pela dificuldade de escovar com o aparelho), vamos também colocar um líquido que tem cor azul e aplicar um laser (luz) que tem cor vermelha, não dói. Você pode sentir um desconforto durante a limpeza da sujeira dos dentes e da gengiva e pode sair um pouco de sangue, o que é normal até quando você escova os dentes e sua gengiva está inflamada, mas também não vai doer, pode apenas ser um pouco desconfortável. Você vai responder um questionário quando acabarmos, mas ninguém além de mim verá suas respostas.

Os adultos que são responsáveis por você deixaram você participar, mas se não quiser não tem problema, ninguém irá ficar bravo com você.

Talvez possa acontecer de você ficar com vergonha ou medo, ou ainda não gostar, mas não tem problema, é só falar que não quer mais participar.



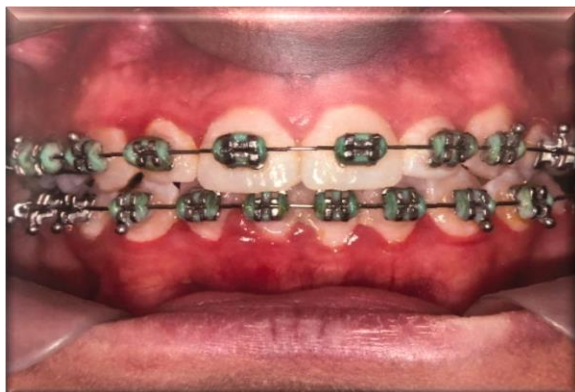
Vamos nos encontrar 2 vezes: hoje, daqui 30 dias após tratarmos a sua gengiva. Em 30 dias, vamos apenas ver como está sua gengiva, colocar o cone de papel (palitinho sem ponta), a sonda (a sonda é um instrumento que não corta e não tem ponta afiada, como se fosse um palitinho sem ponta afiada), mas não vamos mais limpar e aplicar o laser (luz) vermelho.

Vamos usar as informações sobre você para um trabalho, para mostrarmos que isso pode ocorrer com frequência com outras pessoas, mas ninguém vai saber que essas informações são suas.

Vamos fazer algumas fotos para comparar o resultado do tratamento, mas estas fotos vão apenas ser vistas no trabalho, não vamos divulgar seu nome e seu rosto, apenas sua boca. Todas as fotos ficarão guardadas comigo e o meu computador tem senha, apenas eu abrirei as fotos para ver se a sua gengiva melhorou. A foto será apenas da sua boca, não do seu rosto.

Abaixo um exemplo de como serão as suas fotos e como é uma gengiva com inflamação e um gengiva saudável durante o uso do aparelho ortodôntico fixo:

Gengivite (gengiva com inflamação)



Gengiva saudável



Se tiver alguma dúvida ou pergunta, pode pedir para seus responsáveis ligar nesse número:
NOME DO PESQUISADOR Dra. Ellen Perim (11) 981007181

E-MAIL ellen_perim@hotmail.com

SIM, aceito participar, ouvi tudo o que o responsável leu e explicou, e sei que quando não quiser mais participar é só falar não, em qualquer momento. E recebi uma cópia deste papel.

NÃO, não quero participar.

Ellen Perim Rosa do Nascimento

Responsável

ANEXO 8.4



Ficha de Anamnese

Data: ___/___/___	Id do paciente:
Pesquisador:	

Nome: _____ Rg: _____

Data de nascimento: ___/___/___ profissão/ocupação: _____

Etnia: () Leuco. () Melano. () Outros: _____ Gênero () M () F Estado Civil: Casado () Solteiro () Outros: _____

Nível de escolaridade: Fundamental () Médio () Superior ()/ Completo () Incompleto ()

Qual a renda salarial mensal (em salários mínimos): _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Telefone: _____

História Médica:

Tem ou teve algum problema de saúde não relatado?

Está em tratamento médico no momento? Não () Sim () qual(is)? _____

Faz uso de algum medicamento de uso contínuo? _____

Tem alguma alergia? Não () Sim () Quais? _____

História Odontológica

Há quanto tempo usa aparelho? _____

Outras Alterações Odontológicas: _____

Hábitos

Escova os dentes quantas vezes ao dia? _____ Faz uso do fio dental? Sim () Não ()

Usa escova interdental? Sim () não ()

Se sim, com qual frequência? Sempre () De vez em quando () Quase Nunca

Eu, _____, RG _____,

declaro para todos os fins legais, que as informações sobre o meu estado de saúde são verdadeiras e que nada omiti neste questionário realizado. Concordo também em participar do projeto de pesquisa **“EFICÁCIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA E DA RASPAGEM EM GENGIVITE FACILITADA PELO USO DE APARELHO ORTODÔNTICO FIXO: ESTUDO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO”**, sabendo que farei apenas a raspagem e a aplicação de PDT e, se necessário, serei encaminhado para outros tratamentos odontológicos.

Assinatura _____ Data ____/____/____

Efficacy of photodynamic therapy and periodontal treatment in patients with gingivitis and fixed orthodontic appliances

Protocol of randomized, controlled, double-blind study

Elen Perim Rosa, MSc^a, Felipe Murakami-Malaquias-Silva, MSc^a, Tania Oppido Schalch^a, Daniela Bezerra Teixeira, PhD^a, Ricardo Fidos Horlana, PhD^b, Andre Tortamano, PhD^c, Isabel Peixoto Tortamano, PhD^d, Inês Aparecida Buscariolo, PhD^d, Priscila Larcher Longo, PhD^e, Renata Matalon Negreiros, PhD^a, Sandra Kail Bussadori, PhD^a, Lara Janski Motta, PhD^a, Anna Carolina Ratto Tempestini Horlana, PhD^{a,*}

Abstract

It is known that the presence of orthodontic brackets predisposes for a change in the biofilm, facilitating the development of gingivitis. The sites are difficult to access with a toothbrush and periodontal curette, worsening inflammation, in addition, a gingival hyperplasia is associated with poor hygiene. The objective of this study is to evaluate the impact of photodynamic therapy (PDT) as an adjuvant treatment, considering clinical immunoregulatory and microbiological parameters. This randomized, controlled, double-blind clinical study will include 34 patients, both genders, having used fixed appliances for more than 12 months, with gingivitis. Participants will be divided into two groups: G1 (n=17)- Scaling and Root Planing + PDT placebo and G2 (n=17)- Scaling and Root Planing + PDT. In G2 the following dosimetric parameters will be used: methylene blue 0.005%, $\lambda=660$ nanometers (nm), 9 Joules (J) per site, irradiance= 3.5Watts (W)/ centimeters (cm), radiant exposure= 318J/cm². All participants will receive oral hygiene guidance prior the curettes scaling. The clinical periodontal data to be analyzed are plaque index, gingival index and probing depth. Ocrevicular fluid, from 4 pre-determined sites and saliva, will be collected and analysed for IL-6, IL-1 β , IL-8, TNF- α and IL-10 cytokines using ELISA (Enzyme immunoabsorption assay) method. Total Bacteria count will also be performed, by qPCR and Universal16SrRNA gene. All analysis will be realized using in the baseline (T₀), 7 (T₁) and 21 (T₂) days after treatment. Oral health-related quality of life will be assessed using the ÖHIP-14 questionnaire at times T₀ and T₂. If sample distribution is normal, the Student T-test will be applied if it is not normal, the Mann-Whitney test will be used. The data will be presented in terms of \pm PD and The significance level will be set at p < 0.05. Our results may improve quality of life and add data to establish a therapeutic alternative for gingivitis during the orthodontic treatment. Registration: clinicaltrials.gov NCT04037709. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04037709> - Registered in July 2019.

Abbreviations: μ l = microliters, ANVISA = Brazilian Healthy Regulatory Agency, cm = centimeters, ECJ = enamel-cement junction, Elisa = enzyme immunoabsorption assay, g = gramas, GI = gingival index, ICC = intraclass correlation coefficient, ICF = informed consent form, J = joules, MB = methylene blue, ml = milliliters, mm = millimeters, nm = nanometers, ÖHG = oral hygiene guidance, ÖHIP-14 = Oral Health Impact Profile Questionnaire, P = plaque index, PD = probing depth, PDT = photodynamic

Ethics and dissemination: This protocol received approval from the Human Research Ethics Committee of Universidade Nove de Julho (certificate number: 3.503.688) on July 2019. The individual data of the patients will remain confidential.

Disclosure: The author(s) of this work have nothing to disclose.

Additional data: The results of this study may be presented at international conferences and published. All data will be saved on the laboratory of the Department of Biophotonics Applied to Health Sciences, of Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil.

Funding: Project receive grant from Brazilian National Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel CAPES # 7692/40 (CAPES Portuguese: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)).

The authors report no conflicts of interest.

^a Postgraduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho, UNMCVE, São Paulo, Brazil. ^b Academic specialization student in Temporomandibular Disorder and Orofacial pain, ^c Department of Orthodontics, School of Dentistry, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. ^d Department of Stomatology, School of Dentistry, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. ^e Postgraduate Program of Aging Science - São Judas Tadeu University - São Paulo, SP, Brazil.

* Correspondence: Anna Carolina Ratto Tempestini Horlana, Postgraduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho, R. Vergueiro, 235/240, CEP 01504-001- São Paulo, Brazil (e-mail: annacrill@gmail.com).

Copyright © 2020 the Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc.

This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License 4.0 (CCBY), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

How to cite this article: Rosa EP, Murakami-Malaquias-Silva F, Schalch TO, Teixeira DB, Horlana RF, Tortamano A, Tortamano IP, Buscariolo IA, Longo PL, Negreiros RM, Bussadori SK, Motta LJ, Horlana AC. Efficacy of photodynamic therapy and periodontal treatment in patients with gingivitis and fixed orthodontic appliances: Protocol of randomized, controlled, double-blind study. *Medicine* 2020;99(14):e19429.

Received: 3 February 2020 / Accepted: 6 February 2020

<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000019429>