

Terapia Fotodinâmica na Odontologia (T.F.D.)

INTRODUÇÃO

A microbiota bucal dos humanos é altamente complexa e diversa, sendo caracterizada pela presença de cerca de 400 espécies bacterianas além de protozoários, fungos, micoplasmas e vírus (MARCOTTE & LAVOIE¹³, 1998). Nesse contexto, a cárie dental está intimamente associada com a microbiota residente no biofilme dental já que os dentes são estruturas sólidas que oferecem sítios de colonização para os microrganismos tanto na região supragengival como na região subgengival (MARSH & MARTIN¹⁴, 1992). Em contraste, as superfícies mucosas são caracterizadas pela constante descamação promovendo rápida eliminação das bactérias aderidas (MARCOTTE & LAVOIE¹³, 1998).

A formação do biofilme dental representa um bom exemplo das forças envolvidas na manutenção da homeostase dos ecossistemas orais. Imediatamente após a limpeza da superfície dental por um profissional inicia-se a deposição de uma camada acelular denominada película adquirida (NYVAD¹⁵, 1993). Os microrganismos pioneiros na colonização da película adquirida são os Streptococcus (Streptococcus sanguinis, Streptococcus oralis e Streptococcus mitis) e em proporções menores Neisseria e Actinomyces (GIBBONS & HAY⁸, 1988). Após a colonização inicial, os microrganismos pioneiros crescem rapidamente formando colônias que ficam embebidas em uma matriz extracelular composta por componentes de origem salivar e bacteriano (BOWDEN & EDWARDSSON², 1995). A seguir, ocorre o aumento da diversidade bacteriana até atingir uma comunidade clímax em duas ou três semanas.

O surgimento de doenças neste ambiente só ocorre quando há um desequilíbrio no ecossistema do biofilme bacteriano. Assim, por exemplo, um aumento significativo na frequência e consumo de sacarose pode favorecer o desenvolvimento de espécies sacarolíticas acidúricas e acidogênicas como estreptococos grupo mutans e lactobacilos (MARCOTTE & LAVOIE¹³, 1998), favorecendo a desmineralização progressiva dos tecidos duros do dente (THYLSTRUP & FEJERSKOV¹⁸, 1995).

Após a desmineralização do esmalte, a lesão progride lentamente em direção à dentina sendo caracterizada por uma área de dentina desmineralizada sob uma zona desmineralizada e infectada com bactérias (BURNS et al.⁶, 1994). Clinicamente, a diferenciação entre essas zonas e a remoção apenas da dentina contaminada é extremamente crítica, de maneira que grande quantidade de tecido sadio desmineralizado é removido durante o preparo cavitário (BURNS et al.⁶, 1994). Assim, seria interessante o desenvolvimento de uma terapia capaz de matar as bactérias in situ, reduzindo a quantidade de tecido dental removido e favorecendo o prognóstico do elemento dental restaurado (BURNS et al.⁶, 1994; BURNS et al.⁵, 1995).

Ação antimicrobiana da Terapia Fotodinâmica

Nesse contexto, a utilização de lasers capazes de matar microrganismos patogênicos surge como uma terapia auxiliar ao tratamento odontológico preventivo e restaurador. O efeito dos lasers geradores de calor na destruição das bactérias é conhecido em diversas áreas da odontologia. De modo geral, esses lasers requerem elevadas dosagens de energia e atingem a superfície irradiada com altas temperaturas, promovendo uma esterilização local por ação térmica (WALSH¹⁹, 1997; KATO et

- Iriana Carla Junqueira Zanin

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Cariologia da FO/Piracicaba/UNICAMP

- Aldo Brugnera Jr.

Diretor do Centro de Laser em Biomedicina do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento IPD-UNIVAP, Doutor pela UFRJ

- Fátima Zanin

Professora de Dentística e Estética da FO/São Paulo/UCCB, Doutora pela UFRJ

- Reginaldo Bruno Gonçalves

Professor de Microbiologia e Imunologia da FO/Piracicaba/UNICAMP

Os AA analisam o uso da T.F.D. na Odontologia, com o objetivo de reduzir as bactérias bucais que causam cárie e doença periodontal.

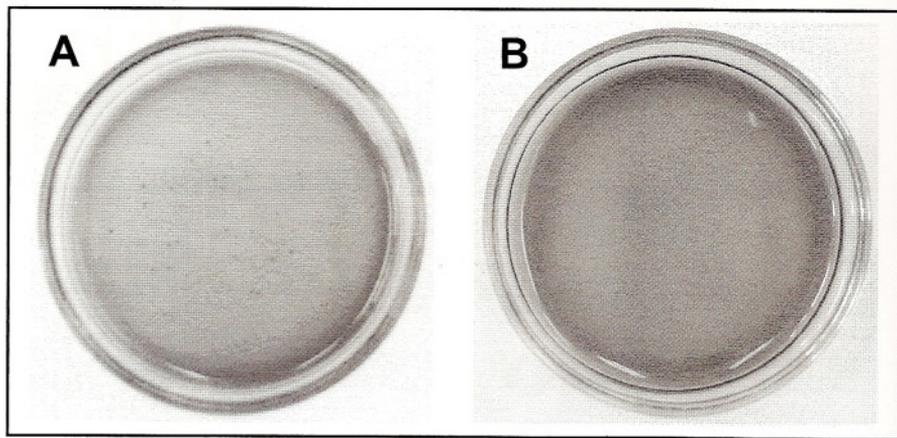


Fig. 1 - Crescimento de *Streptococcus mutans* (A) nos grupos tratados sem laser e sem corante, somente com laser ou somente com corante. Observar a ausência de unidades formadoras de colônia *Streptococcus mutans* quando esse microrganismo foi exposto a terapia fotodinâmica (B).

al.¹⁰, 1998). Por outro lado, os lasers de baixa potência têm como finalidade restabelecer o equilíbrio biológico celular melhorando as condições de vitalidade tecidual. Assim, esses lasers são reconhecidos por sua ação analgésica, biomoduladora e antiinflamatória sobre tecidos duros e moles, produzido por efeitos fotoquímicos e fotoelétricos ao invés de efeitos térmicos (BRUGNERA JUNIOR & PINHEIRO³, 1998).

A ação antimicrobiana dos lasers de baixa potência só começou a ser efetivamente estudada na última década, quando a terapia fotodinâmica inicialmente idealizada para o tratamento do câncer foi trazida para a odontologia. Enquanto no tratamento do câncer o alvo da terapia fotodinâmica é promover a morte seletiva das células tumorais, no caso da odontologia surge uma nova perspectiva para a utilização da terapia fotodinâmica tendo como alvo as células bacterianas envolvidas no desenvolvimento das lesões de cárie e da doença periodontal.

Como à semelhança das células tumorais a maioria das bactérias orais não absorve a luz visível, a utilização de um cromóforo (nesse caso conhecido como fotossensibilizador) que se fixe à parede bacteriana atraindo para si a luz laser no momento da irradiação, é essencial para que os lasers de baixa potência tenham ação antimicrobiana sobre bactérias orais (WILSON et al.²³, 1992; WILSON²¹, 1993). Desse modo, quando as bactérias coradas com um fotossensibilizador específico são irradiadas por uma luz laser de comprimento de onda complementar, ocorre a absorção de fótons pelo corante, que é convertido para um estado excitado caracterizado pela passagem dos elétrons para níveis de energia superiores. A seguir, a energia transferida para as moléculas vizinhas pode resultar na formação de moléculas reativas como o oxigênio singleto, íons superóxidos, hidroxilas e outros radicais livres que podem danificar e, em último caso, matar as células bacterianas (SPIKES & JORI¹⁷, 1987; MACROBERT et al.¹¹, 1989; MALIK et al.¹², 1990; DOBSON & WILSON⁷, 1992; WILSON et al.²⁴, 1993; BRATTI et al.¹, 1997).

No entanto, a habilidade de um componente em absorver uma luz incidente não significa necessariamente que ele possa atuar como um fotossensibilizador. Outros requisitos importantes são que ele não apresente características tóxicas para as células do hospedeiro, além de permanecer em estado excitado por tempo suficiente para permitir a sua interação com as moléculas vizinhas e produzir espécies citotóxicas capazes de causar a morte bacteriana (MACROBERT et al.¹¹, 1989).

REVISÃO DA LITERATURA

Os primeiros trabalhos utilizando a terapia fotodinâmica sobre bactérias orais foram realizados por WILSON et al.²³ (1992). Neste momento, o maior interesse dos autores era descobrir compostos químicos que pudessem ser efetivamente utilizados como fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica. Nesse estudo foram testados 27 compostos e 16 deles tinham capacidade de matar *S. sanguinis* quando associados a um laser HeNe. Os mais efetivos foram o azul de toluidina O (TBO), azul de metileno, alumínio dissulfonato fitalocianino (AIPcS₂), o cristal de violeta e a dihematoporfirina éster (DHE). Neste mesmo estudo, TBO e azul de metileno mostraram-se eficazes na redução de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in vitro. Em todos os casos, o uso do corante na ausência da luz laser não apresentou efeito significativo sobre a viabilidade dos microrganismos testados.

No mesmo ano, DOBSON & WILSON⁷ (1992) estudaram a ação do laser HeNe associado ao azul de toluidina O ou azul de metileno sobre *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* e *S. sanguinis*. Neste trabalho, a redução no número de microrganismos, demonstrada pelo aparecimento de zonas de inibição de crescimento, foram encontradas para os quatro microrganismos com ambos os corantes na concentração de 0,005% e densidade de energia de 16,5 J/cm².

Em 1993 a ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica começou a ser estudada sobre bactérias cariogênicas (BURNS et al.⁴ 1993). BURNS et al.⁶ (1994) observaram que *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei* e *Actinomyces viscosus* eram sensíveis à combinação de um laser de HeNe/ TBO ou laser AsGaAl/AIPcS₂. No ano seguinte, estudos semelhantes mostraram reduções de aproximadamente 10⁶ unidades formadoras de colônias (UFC) para esses microrganismos.

BURNS et al.⁵ (1995) também estudaram o efeito da terapia fotodinâmica sobre suspensões de *S. mutans* presentes em dentina humana. Quando fatias de dentina com vários graus de desmineralização estavam interpostos entre a luz laser e a suspensão bacteriana, um efeito bactericida da ordem de 10⁷ UFC foi encontrado. Os resultados deste estudo sugeriram não haver relação entre a proporção de morte bacteriana e o grau de desmineralização da dentina ao passo que maiores doses de energia promoviam um aumento na proporção de mortes. Quando

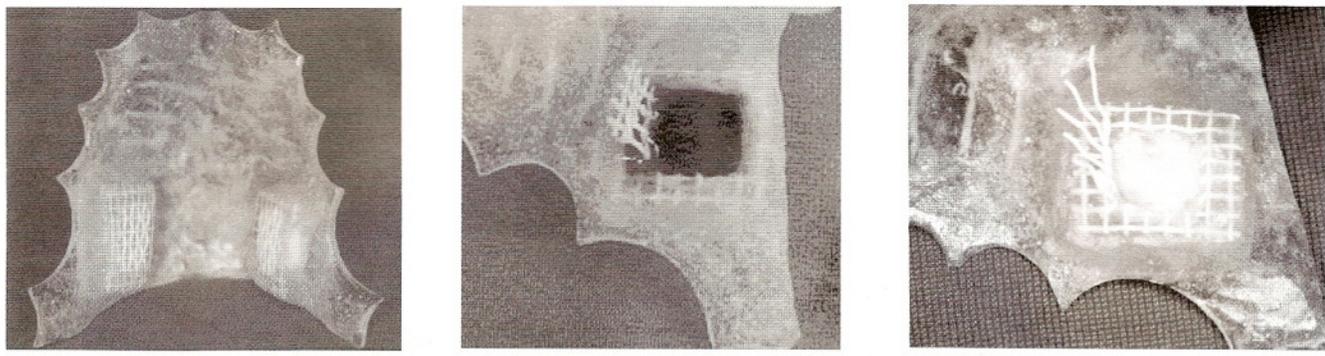


Fig. 2 - (A) Aparelho utilizado para formação de biofilme in situ. (B) Biofilme formado sobre bloco de esmalte dental humano. (C) Colocação do fotossensibilizador sobre o biofilme formado.

os microrganismos estavam embebidos em uma matriz de colágeno no momento da irradiação a redução no número de microrganismos (10^8 até 10^{10} UFC) foi observada, sugerindo que a terapia fotodinâmica pode ser efetiva sobre *S. mutans* mesmo quando as bactérias estão embebidas em dentina desmineralizada.

Neste mesmo ano, WILSON et al.²⁰ (1995) realizaram um estudo a fim de avaliar se bactérias presentes no biofilme dental de 10 voluntários podiam ser mortas pela terapia fotodinâmica. Neste estudo a combinação TBO/HeNe foi mais efetiva do que AlPcS₂/GaAs para reduzir as contagens de bactérias anaeróbicas, estreptococos e Actinomyces.

A fim de avaliar o efeito da terapia fotodinâmica sobre biofilmes organizados, WILSON et al.²² (1996) avaliaram quantitativamente o efeito dessa terapia sobre *S. sanguinis* utilizando um aparelho que simulava as condições bucais que era constantemente alimentado por saliva artificial. Os autores observaram uma diminuição gradativa no número de microrganismos viáveis diretamente proporcional ao aumento da densidade de energia depositada.

HENRY et al.⁹ (1996) estudaram o efeito da terapia fotodinâmica sobre 18 microrganismos, sendo 6 bactérias produtoras de pigmento negro. A sensibilização das células bacterianas com um fotossensibilizador exógeno não foi realizada a fim de observar se o pigmento negro endógeno produzido por essas bactérias poderia realizar essa função. A análise dos resultados demonstrou que a irradiação produziu efeitos fototóxicos sobre algumas espécies de *Prevotellas* e *Porphyromonas*.

Mais recentemente ZANIN et al.²⁵ (2002) demonstraram que *S. mutans* (Figura 1), *S. sobrinus*, *L. acidophilus* e *L. casei* podem ser mortos pela associação de um laser diodo e azul de toluidina O. A utilização da terapia fotodinâmica produziu efeito bactericida total na viabilidade dos microrganismos, com as contagens caindo de 10^7 a 10^{10} UFC mL⁻¹ para zero utilizando uma densidade de energia de 28,8 J/cm².

Nesse mesmo ano, ZANIN et al.²⁶ (2002) observaram que quando um pool de saliva humana era submetido a terapia fotodinâmica ocorria um efeito bactericida total sobre estreptococos grupo mutans e efeito bactericida parcial sobre estreptococos totais presentes na saliva humana. A relevância desse estudo está na eliminação das espécies mais patogênicas com a preservação de parte da microbiota residente, já que a esterilização da cavidade oral não é recomendada por tornar o

hospedeiro mais susceptível ao aparecimento de infecções oportunistas.

Finalmente, O'NEILL et al.¹⁶ (2002) observaram que biofilmes orais formados por múltiplas espécies in vitro podem ser mortos pela terapia fotodinâmica utilizando um laser de HeNe associado ao corante azul de toluidina O. Nesse estudo, biofilmes com aproximadamente 9×10^9 células bacterianas tiveram uma redução de 97,4% dos microrganismos viáveis após a irradiação com 31,5 J na presença do azul de toluidina O na concentração de 25 mg/mL.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Assim, muitos trabalhos tem demonstrado a eficácia da terapia fotodinâmica em matar bactérias relacionadas ao desenvolvimento das lesões de cárie e doença periodontal em humanos. A revisão da literatura nos mostra que esse efeito antimicrobiano vem sendo atingido por sucessivos autores em maiores ou menores proporções.

WILSON²¹ (1993) descreve as vantagens dessa técnica em relação ao uso dos agentes antimicrobianos tradicionais. Primeiramente, a morte da célula bacteriana pode ser rápida, não sendo necessária a manutenção do agente químico em altas concentrações sobre as lesões por longos períodos de tempo como ocorre com o uso de antibióticos. Outro aspecto relevante é que o uso do fotossensibilizador ou da luz laser sozinhos não apresentam efeito significativo sobre a viabilidade das bactérias, de modo que a terapia pode ser confinada à área da lesão pela aplicação tópica cuidadosa do corante e restrição da irradiação por meio do uso de fibra ótica.

Além disso, o desenvolvimento de uma terapia eficiente para a obtenção de efeito bactericida sobre bactérias presentes em biofilmes orais e sobre a cárie dental, utilizando lasers de baixa potência, seria interessante principalmente no que diz respeito ao custo reduzido quando comparada a obtenção de efeito antimicrobiano utilizando os lasers de alta potência. Outro aspecto importante seria o carácter atraumático da terapia fotodinâmica que teria implicações lógicas principalmente no que diz respeito ao tratamento de pacientes especiais e pediátricos (ZANIN & GONÇALVES²⁷, 2003)

No entanto, embora esse dados sejam altamente promissores, outros estudos devem ser desenvolvidos a fim de tornar a utilização da terapia fotodinâmica aplicável na clínica odontológica. Uma das limitações dessa técnica é a ausência de parâmetros definidos para que a terapia fotodinâmica seja efeti-

va na eliminação das bactérias presentes em biofilmes e nas lesões de cárie, onde as bactérias são mais resistentes do que aquelas crescidas em caldo de cultura (Figura 2).

Os biofilmes bacterianos são formados quando microrganismos unicelulares se reúnem, para formar uma comunidade aderida a uma superfície sólida e envolvida por uma matriz de polissacarídeos extracelulares. Tem sido observado que microrganismos inseridos nos biofilmes podem ser de 10 a 1000 vezes resistentes aos agentes antimicrobianos, quando comparadas às mesmas bactérias crescidas em caldos de cultura. Além disso, estudos paralelos devem ser realizados avaliando a toxicidade dos fotossensibilizadores sobre os tecidos dentais e gengivais.

Atualmente, centros de pesquisa em vários países tem se esforçado no desenvolvimento de técnicas e parâmetros que tornem a terapia fotodinâmica eficaz para ser aplicada *in vivo*. No entanto, estudo laboratoriais mais precisos devem ser realizados antes de que essa terapia possa ser aplicada clinicamente em humanos. Além disso, devemos nos lembrar que devido ao caráter multifatorial da doença cárie, as medidas de prevenção dessa doença devem abranger todos os seus fatores de risco, sejam eles aqueles relacionados à dieta, a susceptibilidade do hospedeiro bem como aqueles relacionados a microbiota cariogênica.

RESUMO

A redução de microrganismos patogênicos da superfície dental é um dos principais fatores envolvidos na prevenção e controle da doença cárie. Com esse propósito, a terapia fotodinâmica surge como um tratamento alternativo devido a sua habilidade em matar microrganismos. Nessa terapia, bactérias previamente sensibilizadas com um fotossensibilizador específico, são irradiadas com um laser de baixa potência iniciando a formação de radicais orgânicos que podem culminar com a morte bacteriana. O objetivo dessa revisão foi dar ao leitor informações sobre o uso da terapia fotodinâmica na redução de bactérias bucais, e as novas perspectivas para o uso dessa terapia na odontologia.

Unitermos: cárie dental, bactérias, terapia fotodinâmica, lasers.

SUMMARY

Elimination of pathogenic microorganisms from dental surface has been one of the most important factors related to dental caries control and prevention. In this way, photodynamic therapy became as an alternative treatment because of its ability to kill microorganisms. In this therapy, pre-sensitized bacteria irradiated with a low-power laser beginning the formation of free organic compounds that may kill bacteria. The aim of this review was to provide the reader with information about antimicrobial activity of photodynamic therapy and new perspectives for the use of this therapy in dentistry.

Uniterms: dental caries, bacteria, photodynamic therapy, lasers.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BHATTI, M. et al. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* *in vitro*. *Photochem Photobiol*, Lawrence, v.65, n.6, p.1026-31, Mar. 1997.
2. BOWDEN, G.; EDWARDSSON, S. Ecologia oral e cárie dentária. In:

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.3, p.45-9.
3. BRUGNERA JUNIOR, A.; PINHEIRO, A.L.B. Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast, 1998. 356p.
4. BURNS, T.; WILSON, M.; PEARSON, G. J. Sensitization of cariogenic bacteria to killing by light from a helium-neon laser. *J Med Microbiol*, London, v.38, n.6, p. 401-5, June 1993.
5. BURNS, T.; WILSON, M.; PEARSON, G.J. Effect of dentine and collagen on the lethal photosensitization of *Streptococcus mutans*. *Caries Res*, Basel, v.29, n.3, p.192-7, Oct. 1995.
6. BURNS, T.; WILSON, M.; PEARSON, G.J. Killing of cariogenic bacteria by light from gallium arsenide diode laser. *J Dent*, Oxford, v.22, n.5, p.273-8, Oct. 1994.
7. DOBSON, J.; WILSON, M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. *Arch Oral Biol*, Oxford, v.37, n.11, p.883-7, Nov. 1992.
8. GIBBONS, R.J.; HAY, D.I. Human salivary acidic proline-rich-proteins and statherin promote the attachment of *Actinomyces viscosus* LY7 to apatite surfaces. *Infect Immun*, Washington, v.56, n.2, p.439-45, Feb. 1988.
9. HENRY, C.A. et al. Phototoxicity of argon laser irradiation on biofilms of *Porphyromonas* and *Prevotella* species. *J Photochem Photobiol B*, Lausanne v.34, n.2/3, p.123-8, July 1996.
10. KATO, T.; KUSAKARI H.; HOSHINO, E. Bactericidal efficacy of carbon dioxide laser against bacteria-contaminated titanium implant and subsequent cellular adhesion to irradiated area. *Lasers Surg Med*, New York, v.23, n.5, p.299-309, 1998.
11. KAZOR, C.E.; MITCHELL, P.M.; LEE, J.M.; STOKES, L.N.; LOESCHE, W.J.; DEWHIRST, F.E.; PASTER, B.J.. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitoses and healthy patients. *J Microbiol*, v.42, n.2, p.558-563, 2003.
12. MACROBERT, A.J.; BOWN, S.G.; PHILLIPS, D. What are the idea properties of a photosensitizer? In: *PHOTOSENSITIZING compounds: their chemistry, biology and clinical use*. Chichester: Wiley, 1989. p.4-16.
13. MALIK, Z. et al. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins - an alternative approach to antimicrobial drugs. *J Photochem Photobiol B*, Lausanne, v.5, n.3-4, p.281-93, May 1990.
14. MARCOTTE, H.; LAVOIE, M.C. Oral microbial ecology and the hole of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev*, Washington, v.62, n.1, p.71-109, Mar. 1998.
15. MARSH, P.; MARTIN, M. *Oral microbiology*. 3rd ed. London: Chapman & Hall, 1992.
16. NYVAD, B. Microbial colonization of human tooth surfaces. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Suppl*, Copenhagen, v.32, n.1, p.1-45, 1993.
17. O'NEILL JF, HOPE CK, WILSON M. Oral bacteria in multi-species biofilms can be killed by red light in the presence of toluidine blue. *Lasers Surg Med*, v. 31, n.2, p.86-90, 2002.
18. SPIKES, J.D.; JORI, G. Photodynamic therapy of tumours and other diseases using porphyrins. *Lasers Med Sci*, Sidcup Kent, v.2, p.3-15, 1987.
19. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. O ambiente oral - uma introdução. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.1, p.13-16.
20. WALSH, L.J. The current status of low-level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications. *Aust Dent J*, St Leonards, v.42, n.5, p.302-6, Oct. 1997.
21. WILSON, M. et al. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. *J Appl Bacteriol*, Oxford, v.78, n.5, p.569-74, May 1995.
22. WILSON, M. Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease. *J Appl Bacteriol*, Oxford, v.75, n.4, p.299-306, Oct. 1993.
23. WILSON, M.; BURNS, T.; PRATTEN, J. Killing of *Streptococcus sanguis* in biofilms using a light-activated antimicrobial agent. *J Antimicrobial Chemother*, London, v.37, n.2, p.377-81, Feb. 1996.
24. WILSON, M.; DOBSON, J.; HARVEY, W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol*, New York, v.25, n.2, p.77-81, Ago. 1992.
25. WILSON, M.; DOBSON, J.; HARVEY, W. Sensitization of *Streptococcus sanguinis* to killing by low-power laser light. *Lasers Med Sci*, Sidcup Kent, v.8, p.69-73, 1993.
26. ZANIN I.C.J., BRUGNERA JUNIOR A., GONÇALVES R.B. Aplicação da Terapia Fotodinâmica na Descontaminação Bacteriana. *Revista da APCD*, v.56 SUPL., p. 7-11, junho 2002.
27. ZANIN I.C.J., BRUGNERA JUNIOR A., HÖFLING J.F., ZANIN F.A.A., GONÇALVES R.B. Antimicrobial effect of low-level laser therapy in the presence of photosensitizer on human saliva bacteria. *Lasers in Dentistry III*, v.3, n.2, p.162-169, 2002.
28. ZANIN I.C.J., GONÇALVES R.B. Novas Perspectivas para o uso do Laser Terapêutico. In: BRUGNERA JUNIOR, A.; SANTOS, A. E. C. G.; BOLOGNA, E. D.; LADALARDO, T. C. C. G. *Laserterapia Aplicada à Clínica Odontológica*. 1 ed. São Paulo: Santos, 2003. cap.6, p. 99-102.