

Protocol studiului pentru depunerea la Comisia de Etica a UMF „Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca

Titlul Studiului:

Evaluarea clinică, microbiologică și imunologică a terapiei fotodinamice antimicrobiale la tratamentul parodontal de menținere

(Clinical, Microbiological and Immunological Evaluation of Antimicrobial Photodynamic Therapy During Supportive Periodontal Therapy)

Centre participante la studiu:

Clinica de parodontologie

Universitatea Berna, Elvetia

Director: Prof. Dr. med. Dent. Anton Sculean, Dr. h.c., M.S.

Freiburgstr. 7, 3010 Berna, Elvetia

Clinica de Protetica Dentara

Universitatea de Medicina si Farmacie “Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca

Coordonator studiu: Sef lucrari Dr. Raluca Cosgarea

Str. Clinicilor Nr. 32, Cluj-Napoca

E-Mail: raluca.cosgarea@umfcluj.ro

Tel: 0751-638901

Timp estimat pentru desfasurarea studiului:

2015-2017

Introducere

Terapia de menținere a tratamentului parodontal are ca scop prevenirea sau cel puțin reducerea la minim a recidivei bolii la pacienții tratați parodontal.

Terapia de menținere se organizează în ședințe de control periodice, în care se realizează reevaluări ale statusului parodontal, reinstrumentarea pungilor parodontale care prezintă semne clinice de boală activă, reinstruirea asupra măsurilor de igienă personală și realizarea periajului profesional. Studii au arătat că repetarea surfasajului și chiuretajului radicular nu este eficient pentru toate pungile tratate anterior (Anderson et al 1996). Așadar, la pacienții la care s-au constatat recidive în etapa de menținere s-au investigat și efectele terapiei antibiotice ca adjuvant, sau a diferitelor tipuri de lasere, în special al terapiei fotodinamice (PDT) (Bogren et. al. 2008, Dnnewitz et al. 2009, Chondros et al. 2009, Kolbe et al. 2014, Campos et al. 2013).

PDT-ul este utilizat în scop medical încă din anul 1904. Terapia se bazează pe inactivarea celulelor bacteriene de către lumină. Se folosește o substanță fotosensibilizantă care absoarbe lumina, după care se fixează la nivelul celulelor țintă. Expunerea la lumină, cu o lungime de undă adecvată, în prezența oxigenului molecular, generează oxigen singlet și radicali liberi, care sunt citotoxici pentru microorganisme (Soukos & Goodson 2011, Von Tappeiner et al. 1904, Dougherty et al. 1998, Sharman et al. 1999, Chan et al. 2003).

Eficiența clinică a PDT-ului ca și adjuvant pentru SRP a fost investigată atât în etapa inițială etiologică (Theodoro et aş. 2012, Iuchesi et al. 2013) , cât și în cea de menținere (Chondros et al. 2009, Campos et al., Kolbe et al. 2014). S-au demonstrat îmbunătățiri parțiale din punct de vedere clinic, microbiologic și imunologic. Însă, unele studii clinice controlate (RCTs) care au comparat , de-o parte efectul PDT-ului ca și adjuvant pentru SRP, iar pe de altă parte efectul acestuia ca alternativă terapeutică separată, au raportat rezultate contradictorii referitor la eliminarea patogenilor parodontali și îmbunătățirea parametrilor clinici (Atieh et al. 2010, Azarpazhooh et al 2010).

S-au analizat și efectele terapiei antibiotice locale la pacienții în faza de menținere parodontală. Recenziile sistematice raportează rezultate clinice mult îmbunătățite, cu reducerea profunzimii la sondare și câștig de atașament, în cazurile în care s-au folosit și antibiotice locale ca și adjuvant pentru SRP, decât atunci când SRP s-a realizat singur (Bonito et al. 2005, Socransky et al. 1994).

Marele avantaj al PDT-ului este absența posibilității de a crea rezistență la antibiotice, ceea ce face ca acest tratament să se indice în patologiiile cronice, precum parodontica sau periimplatita. Absența

efectelor mutagene și genotoxice este un factor important pentru siguranța pe termen lung al tratamentului, PDT reprezentând o abordare terapeutică valoroasă în managementul biofilmului oral (Konopka & Goslinski 2007). Cu toate acestea, în momentul de față nu există studii clinice randomizate care să investigheze eficiența clinică, microbiologică și imunologică a PDT ca și adjuvant al SRP, comparativ cu eficiența administrării doxiciclinei locale (LDD), în cazul pacienților aflați în SPT.

Scopul acestui studiu este de a compara rezultatele clinice, microbiologice și imunologice în cazul terapiei parodontale non-chirurgicale (surfasaj și chiuretaj radicular) atunci când nu se folosesc alte metode adjuvante, cu rezultatele ce apar în cazurile în care se adaugă fie 2X PDT, fie antibiotic local (LDD) la pacienții diagnosticați cu parodontită cronică și aflați în faza de menținere.

Material și metode.

Obiective

Obiectivul principal :

- Obiectivul principal este modificarea numărului de pungi patologice.

Obiective secundare:

- Modificări ale parametrilor clinici parodontali: PD, nivelul de atașament clinic (CAL), rețracția gingivală (REC).
- Modificări la nivel microbiologic > *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* and *Treponema denticola*.
- Modificări ai interleukinelor IL-1 β , IL-4, IL-6, MMP 8.

Pacienți:

105 pacienți diagnosticați cu parodontită cronică aflați în terapie de menținere vor fi recrutați de la Clinica de protetică dentară din cadrul Universității "Iuliu Hațieganu" Cluj Napoca, România.

Criterii de includere:

Pacienți:

- Vârsta minimă de 25 de ani

- Pacienții trebuie înscriși într-un program regulat de menținere (după încheierea terapiei parodontale active)
- Diagnosticul de parodontită cronică
- Cel puțin o pungă/ cadran cu valori PD \geq 4mm și sângerare
- Igienă orală bună
- Starea generală de sănătate: să nu existe patologii sistemice ce pot influența severitatea sau evoluția patologiei parodontale (Sindromul Down, HIV, Diabet Mellitus tip 1 și 2), să nu fi fost expuși iradierilor în zona cap/gât, să nu existe patologii infecțioase sau cardiace care să necesite antibioterapie profilactică înainte de tratamentul dentar, să nu existe patologii hepatice.
- Consimțământul informat în scris.

Criterii de excludere:

- Utilizarea de antibiotice locale sau pe cale sistemică în ultimele 3 luni precedente.
- Medicația care poate interfera cu doxicilina.
- Medicație ce poate influența starea parodonțiului.
- Sarcina sau lactația
- Pacienții care nu corespund criteriilor de includere.

Protocolul studiului:

Examinarea clinică:

Același examinator orb și calibrat va efectua toate examinările clinice. Următoarele date vor fi evaluate la momentul inițial (înaintea terapiei din ședința terapiei de menținere), după 3, 6 și respectiv 12 luni:

- Istoricul medical
- Istoricul legat de fumat.
- Status dentar
- statusul dentar și parodontal (PPD; CAL, furcații, mobilitate)
- sângerarea și supurația la sondare (BOP și SUP)
- Indicele de placă dentară și inflamație gingivală
- Prelevarea de probe microbiene și probe din fluidul din șanțului crevicular (GCF).

Analiza citokinelor

Următorii parametri imunologici vor fi determinați prin metoda ELISA : MMP-8, IL-1beta, IL-10.

Microbiologia

Următorii patogeni parodontali vor fi determinați prin tehnica PCR (reacția de polimerizare în lanț): *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* and *Treponema denticola* .

Randomizarea

În funcție de o lista de randomizare, pacienților le va fi acordat unul din următoarele tratamente:

Grup A: Ședința 1: SRP plus PDT (Helbo)

 Ședința 2: PDT (după 7 zile)

Grup B: Ședința 1: SRP plus antibiotic local (Ligosan, Heraeus Kulzer GmbH)

Grup C: Ședința 1: SRP singur

Lista de randomizare nu va fi dezvăluită pacientului, examinatorului clinic, terapeutului sau statisticianului.

Procedura clinică:

Doi clinicieni independenți vor realiza toate procedurile ce implică contactul cu pacienții. Unul va înscrie parametrii clinici și va preleva probele microbiene și din GCF, iar celălalt clinician va efectua tratamentul în funcție de lista de randomizare.

Detartrajul subgingival manual și ultrasonic va fi realizat la nivelul tuturor pungilor parodontale cu valori PD \geq 4mm și BOP+. Ulterior, pacienții vor beneficia de tratament în funcție de codul de randomizare.

Grup A:

Ședința 1: Substanța fotosensibilizantă va fi aplicată la nivelul fiecărui dinte care trebuie tratat. Ulterior acestea vor fi tratate cu laserul (HELBO TheraLite Laser, HELBO 3D Pocket Probe, Photodynamic Systems GmbH).

Ședința 2: după o săptămână, va fi repetată PDT-ul.

Grup B:

Se va aplica antibioticul local (Ligosan, Heraeus Kulzer, Germany) la baza fiecărei pungi parodontale tratate..

Grup C:

Toate pungile tratate vor fi clătite cu soluție salină sterilă.

O verificare va avea loc în săptămâna 2.

Evaluările clinice se vor realiza la 3, 6 și respectiv 12 luni după realizarea tratamentului.

Analiza datelor:

Analiza statistică va fi realizată folosind un program computerizat SPSS pentru Windows.

Datele pacienților vor fi documentate pe formulare speciale, depozitate în siguranța de coordonatorul studiului

Complianța și efectele adverse.

Pacienții vor fi instiințați la fiecare ședință de control asupra efectelor adverse. Pacienții vor completa un chestionar referitor la efectele secundare percepute de ei, satisfacția și durerea percepută.

Baza de date

Coordonatorul studiului va asigura depozitarea în deplină siguranță a datelor pacienților.

Literatură

1. Ainamo, J., Bay, I. (1975) Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 25, 229-235.
2. Berglundh, T., Lindhe, J. (1997) Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in dog. *Clin Oral Implants Res* 8 (2), 117-124.
3. Bosshardt, D., D. (2008) Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *J Clin Periodontol* 35 (Suppl. 8), 87-105.
4. Bowers, G., M., Chadroff, B., Carnevale, R. (1989) Histologic evaluation of new human attachment apparatus in humans. Part II: *J Periodontol* 60, 675-682.
5. Bowers, G.M., Schallhorn, R.G., McClain, P.K., Morrison, G.M., Morgan, R., Reynolds, M.A. (2003) Factors influencing the outcome of regenerative therapy in mandibular class II furcations: part I. *J Periodontol* 74, 1255-1268.

6. Brunsvold, M., A., Mellonig, J., T. (1993) Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodontology* 2000, 1, 80-91.
7. Camargo, P., M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Nedic, M., Vasilic, N., Wolinsky, L., E., Kenney, E., B. (2000) A controlled re-entry study on the effectiveness of bovine porous bone mineral used in combination with a collagen membrane of porcine origin in the treatment of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol* 27, 889-896.
8. Camargo, P., M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Divnic-Resnik, T., Pavlovic, M., Kenney, E., B. (2009) A surgical re-entry study on the influence of platelet-rich plasma in enhancing the regenerative effects of bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontol*, 80, 915-923.
9. Camelo, M., Nevins, M., L., Schenk, R., Simion, M., Rasperini, G., Lynch, S., Nevins, M. (1998) Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss® and Bio-Gide®. In *J Periodontics Restorative Dent* 18, 321-331.
10. Casarin, R.C., Del Peloso Ribeiro, E., Nociti, F.H.Jr., Sallum, A.W., Sallum, E.A., Ambrosano, G.M., Casati, M.Z. (2008) A double-blind randomized clinical evaluation of enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class-II furcation involvements. *J Clin Periodontol* 35, 429-437.
11. Cortellini, P., Tonetti, M., S. (2005) Clinical performance of a regenerative strategy for intrabony defects: scientific evidence and clinical experience. *J Periodontol* 76, 341-350.
12. Giannobile, W., V., Somerman, M., J. (2003) Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol* 8, 193-204.
13. Goldman, H, Cohen,, W. (1958): The infrabony pocket: classification and treatment. *J Periodontol* 29: 272-291.
14. Gottlow, J., Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J. (1984) New attachment formation as a result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 11, 494-503.
15. Gottlow, J., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., Wennström, J. (1986) New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 13, 604-616.

16. Hamp, S.E., Nymann, S., Lindhe, J. (1975) Periodontal treatment of multirrooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol* 2, 126-135.
17. Haney, J., M., Nilveus, R., E., McMillan, P., J., Wikesjö, U., M., E. (1993) Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluorethylene barrier membranes support wound stabilisation and enhance bone regeneration. *J Periodontol*, 64, 833-890.
18. Karring, T., Isidor, F., Nyman, S. & Lindhe, J. (1985) New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. *Journal of Clinical Periodontology* 12, 51-60
19. Karring, T., Lindhe, J., Cortellini, P. (2006) Regenerative periodontal therapy. In: Lindhe J, Karring T, Lang N eds. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 5th ed., Oxford: Blackwell Munksgaard, 650-740.
20. Karring, T., Nyman, S. & Lindhe, J. (1980) Healing following implication of periodontitis affected roots into bone tissue. *Journal of Clinical Periodontology* 7, 96-105.
21. Karring, T., Nyman, S., Lindhe, J. & Sirtat, M. (1984) Potentials for root resorption during periodontal wound healing. *Journal of Clinical Periodontology* 11, 41-52.
22. Klein, F., Kim, T., S., Hassfeld, S., Staehle, H., J., Reitmeier, P, Holle, R, Eickholz, P. (2001) Radiographic defect depth and width for prognosis and description of periodontal healing of infrabony defects. *J Periodontol* 72 (12), 1639-1646.
23. Laurell, L., Bose, M., Grazieni, F., Tonetti, M., Berglundh, T. (2006) The structure of periodontal tissues formed following guided tissue regeneration therapy of intra-bony defects in the monkey. *J Clin Periodontol* 33, 596-603.
24. Linares, A., Cortellini, P., Lang, N.P., Suvan, J., Tonetti, M., S. (2006) Guided tissue regeneration/deproteinized bovine bone mineral or papilla preservation flaps alone for treatment of intrabony defects. II: Radiographic predictors and outcomes. *J Clin Periodontol* 33, 351-352.
25. Loe, H. & Waerhaug, J. (1961) Experimental replantation of teeth in dogs and monkeys. *Archives of Oral Biology* 3, 176-184.

26. Lundgreen, D, Slotte, C (1999) Reconstruction of anatomically complicated periodontal defects using bioresorbable GTR barrier supported by bone mineral. A 6-month follow-up study of 6 cases. *J clin Periodontol* 26, 52-62.
27. Melcher ,A. H. (1976) On the repair potential of periodontal tissues. *Journal of Periodontology* 47, 256-260.
28. Mellonig, J., T. (2000) Human histologic evaluation of a bovine-derived xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 20, 19-29.
29. Mellonig, J., T. (1999) Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery; Technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 17, 9-19.
30. Murphy, K., G., Gunsolley, J., C. (2003) Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 8, 266-302.
31. Needleman, I, Tucker, R., Giedrys-Leeper, E., Worthington, H. (2002) A systematic review of guided tissue regeneration for periodontal infrabony defects. *J Periodontal Res* 37, 380-388.
32. Nyman, S., Gottlow, J., Karring, T. & Lindhe, J. (1982) The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *Journal of Clinical Periodontology* 9, 257-265.
33. Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., Rylander, H. (1982) New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 9, 290-296.
34. O'Leary, T.J., Drake, R.B., Naylor, J.E. (1972) The plaque control record. *J Periodontol* 43, 38.
35. Orsini, M., Orsini, G., Benlloch, D., Aranda, J., J., Sanz, M. (2008) Long-term clinical results on the use of bone-replacement grafts in the treatment of intrabony periodontal defects. Comparison of the use of autogenous bone graft plus calcium sulphate to autogenous bone graft covered with a bioabsorbable membrane. *J Periodontol* 79, 1630-1637.
36. Paolantonio, M. (2002) Combined periodontal regenerative technique in human intrabony defects by collagen membranes and anorganic bovine bone. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 73, 158-166.

37. Paolantonio, M., Perinetti, G., Dolci, M., Perfetti, G., Tete, S., Sammartino, G., Femminella, B., Graziani, F. (2008) Surgical treatment of periodontal intrabony defects with calcium sulfate implant and barrier versus collagen barrier or open flap debridement alone: A 12-month randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 79, 1886-1893.
38. Polimeni, G., Koo, K. T., Qahash, M., Xiropaidis, A. V., Albandar, J. M. & Wikesjo. U. M. E. (2004) Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of a space-providing biomaterial on guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology* 31, 725-729.
39. Polimeni, G., Xiropaidis, A. V. & Wikesjo, U. M. E. (2006) Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology* 2000 41, 30-47.
40. Ramseier, C.A., Lang, N.P. (1999) Die Parodontalbehandlung. Ein Lernprogramm zur Qualitätssicherung in der Parodontologie (CD-Rom). Quintessenz Verlag, Berlin.
41. Sculean, A., Berakdar, M., Chiantella, G., C., Donos, N., Arweiler, N., B., Brex, M. (2003a) Healing of intrabony defects following treatment with a bovine-derived xenograft and collagen membrane. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 30, 73-80.
42. Sculean, A., Chiantella, G., C., Windisch, P., Arweiler, N., B., Brex, M., Gera, I. (2005) Healing of intrabony defects following treatment with a composite bovine derived xenograft (Bio-Oss® Collagen) in combination with a collagen membrane (Bio-Guide® Perio). *J Clin Periodontol* 32, 720-724.
43. Sculean, A., Nikolidakis, D, Schwarz, F. (2008a) Regeneration of periodontal tissues: combinations of barrier membranes and grafting materials- biological foundation and preclinical evidence. A systematic review. *J Clin Periodontol* 35 (Suppl. 8), 106-116.
44. Sculean, A., Schwarz, F., Chiantella, G., C., Donos, N., Arweler, N., B., Brex, M., Becker, J. (2007) Five-year results of a prospective, randomized, controlled study evaluating treatment of intra-bony defects with a natural bone mineral and GTR. *J Clin Periodontol* 34, 72-77.
45. Sculean, A., Stavropoulos, A., Windisch, p., Keglevich, T., Karring, T., Gera, I. (2004) Healing of human intrabony defects following regenerative periodontal therapy with a bovine-derived xenograft and guided tissue regeneraion. *Clin Oral Investig* 8, 70-74.

46. Sculean, A., Windisch, P., Keglevich, T., Chiantella, G., C., Gera, I., Donos, N. (2003b) Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative combined with bovine-derived xenograft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 23, 47-55.
47. Sculean, A., Windisch, P., Szendrői-Kiss, D., Horvath, A., Rosta, A., Becker, J., Gera, I., Schwarz, F. (2008b) Clinical and histologic evaluation of an enamel matrix derivative combined with a biphasic calcium phosphate for the treatment of human intrabony periodontal defects. *J Periodontol*, 79, 1991-1999.
48. Stavropoulos, A. (2002) Guided tissue regeneration in combination with deproteinized bovine bone and gentamicin [Ph.D. thesis]. Aarhus, Denmark: Aarhus University, 163.
49. Stavropoulos, A., Chiantella, G., Costa, D., Steigmann, M., Windisch, P., Sculean, A. (2011) Clinical and histologic evaluation of a granular bovine bone biomaterial as an adjunct to GTR with a bioresorbable bovine pericardium collagen membrane in the treatment of intrabony defects. *J Periodontol* 82, 462-470.
50. Stavropoulos, A., Karring, E., S., Kostopoulos, L, Karring, T. (2003) Deproteinized bovine bone and gentamicin as an adjunct to GTR in the treatment of intrabony defects: a randomized controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 30, 486-495.
51. Stavropoulos, A., Karring, T. (2010) Guided tissue regeneration combined with a deproteinized bovine bone mineral (Bio-Oss®) in the treatment of intrabony periodontal defects: 6-year results from a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 37, 200-210.
52. Tonetti, M., S., Cortellini, P., Lang, N., P., Suvan, J., E., Adriaens, P., Dubravec, D., Fonzar, A., Fourmoussis, I., Rasperini, G., Rossi, R., Silvestri, M., Topoll, H., Wallkamm, B., Zybutz, M. (2004) Clinical outcomes following treatment of human intrabony defects with GTR/bone replacement material or access flap alone. *J Clin Periodontol* 31, 770-776.
53. Tonetti, M., S., Pini-Prato, G., Cortellini, P. (1995) Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in intrabony defects. A preliminary retrospective study. *J Clin Periodontol* 22, 229-234.

54. Trombelli, L., Heitz-Mayfield, L. J., Needleman, I., Moles, D., Scabbia, A. (2002) A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal infraosseous defects. *J Clin Periodontol* 29 (Suppl. 3), 117-135.
55. Wachtel, H., Schenk, G., Böhm, S., Wenig, D., Zühr, O., Hürzeler, M., B. (2003) Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 30, 496-504.
56. Wikesjö, U. M. E. & Nilveus, R. (1990) Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. *Journal of Periodontology* 61, 719-724.
57. Wikesjö, U., M., Polimeni, G., Xiropaidis, A., Stavropoulos, A. (2010) Periodontal wound healing/regeneration. In: Sculean A, ed. *Periodontal regeneration*, Boston: Quintessence Publishing, 25-45.
58. Yilmaz, S., Cakar, G., Yildirim, B., Sculean, A. (2010) Healing of two and three wall intrabony periodontal defects following treatment with an enamel matrix derivative combined with autogenous bone. *J Clin Periodontol* 37, 544-550.
59. Yukna, R., Mellonig, J., T. (2000) Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J Periodontol* 71, 752-759.
60. Zitzmann, N., U., Schärer, P., Marinello, C., P., Schüpbach, P., Berglundh, T. (2001) Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss. A histological study in humans. *Int J Periodontics restorative Dent* 21, 289-295.