



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**TERAPIA COM OZÓNO EM MEDICINA DENTÁRIA, O QUE
SABEMOS HOJE EM DIA**

Trabalho submetido por
Thais Naihara Prado
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2022



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**TERAPIA COM OZÓNO EM MEDICINA DENTÁRIA, O QUE
SABEMOS HOJE EM DIA**

Trabalho submetido por
Thais Naihara Prado
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Sérgio Manuel Antunes Félix

Setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao Prof. Doutor Sérgio Manuel Antunes Felix, pois sem a sua orientação e empenho esta dissertação não teria sido concretizada, por este motivo sou grata por todo o auxílio prestado.

A todos os professores e Funcionários do Instituto Universitário Egas Moniz.

À minha família que sempre me apoio e sempre esteve do meu lado.

Aos amigos que se tornaram minha família e sempre estiveram presentes durante esta jornada.

RESUMO

A aplicação do ozônio na higiene oral surge como uma nova e alternativa modalidade de tratamento na medicina dentária. Sendo a terapia com o ozônio um método de tratamento minimamente invasivo e que permite um tratamento mais confortável e sem dor, pois vai ajudar a minimizar o nível de ansiedade e de stress durante o tratamento médico-dentário. O impacto das informações biológicas leva ao uso da aplicação de ozônio por diversos meios para inúmeras opções de tratamento na cavidade oral. O ozônio é uma forma de oxigênio, que tem um papel efectivo no manuseamento de doenças bucais. Esta revisão enfatiza principalmente a utilidade do ozônio na gestão da saúde oral. O seu potencial terapêutico e a sua aplicação clínica, principalmente, no manuseio da Disfunção Temporomandibular. O papel benéfico do ozônio no tratamento de diferentes condições bucais e dentárias ainda é limitado. Existem possíveis efeitos colaterais durante a aplicação intra-oral, pois pode ir para o tracto respiratório superior. Estudos de acompanhamento devem ser realizados para ver o seu resultado em vários planos de tratamento odontológico. Os resultados gerais mostram que a terapia com ozônio é uma forma eficaz de tratar a dor causada pela DTM, e é mais segura e eficaz do que a terapia medicamentosa.

Palavras-Chave: Ozônio, Ozônio terapia, dor orofacial, desordem temporomandibular.

ABSTRACT

The application of ozone in oral hygiene emerges as a new and alternative treatment modality in dentistry. Ozone therapy is a minimally invasive treatment method, which allows for a more comfortable and pain-free treatment, thus helping to minimize the level of anxiety and stress during dental medical treatment. The impact of biological and digital information leads to the use of ozone application by various means for numerous treatment options in the oral cavity. Ozone is a form of oxygen, which plays an effective role in the management of oral diseases. This review primarily emphasizes the usefulness of ozone in oral health management. Its therapeutic potential and its clinical application mainly in the management of temporomandibular disorders. The beneficial role of ozone in the treatment of different oral and dental conditions is still limited. There are possible side effects during intraoral application as it can go into the upper respiratory tract. Follow-up studies should be carried out to see its outcome in various dental treatment plans. Overall results show that ozone therapy is an effective way to treat TMD pain, and is safer and more effective than drug therapy.

Key Words: Ozone, Ozone therapy, orofacial pain, temporomandibular disorder.

ÍNDICE

1- INTRODUÇÃO	13
2- OBJECTIVO	17
3- METODOLOGIA	19
4- DESENVOLVIMENTO	21
4.1 HISTÓRIA DO OZÓNIO	21
4.2 APLICAÇÕES MÉDICAS DO OZÓNIO	23
4.3 MÉTODOS DE ADMINISTRAÇÃO DO OZÓNIO	25
4.4 EFEITO ANTIBACTERIANO DO OZÓNIO	26
4.5 EFEITOS DO OZÓNIO NO CORPO HUMANO	29
4.6 USO DO OZÓNIO EM MEDICINA DENTÁRIA	31
4.6.1 <i>Descontaminação das unidades de água da cadeira odontológica</i>	34
4.6.2 <i>Solução antisséptica para uso oral</i>	35
4.6.3 <i>Terapia com ozónio no controle da cárie</i>	36
4.6.4 <i>Uso de ozónio em endodontia</i>	37
4.6.5 <i>Terapia com ozónio no manuseio de doença periodontal</i>	37
4.6.6 <i>Terapia com ozónio no manuseio de Disfunção Temporomandibular</i>	38
5- CONCLUSÃO	45
6- BIBLIOGRAFIA	47

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1: Equações de transformação do oxigénio em ozónio.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 2: Aparelho ozotop, usado para aplicação de ozónio em medicina dentária.....</i>	<i>33</i>

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1: Principais usos do ozônio em medicina dentária.</i>	<i>31</i>
<i>Tabela 2: Contraindicações ao uso da ozonioterapia.</i>	<i>32</i>

LISTA DE SIGLAS

Sigla	Significado
ATM	Articulação temporomandibular
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
DTM	Disfunção Temporomandibular
Er:YAG	Laser de granada de ítrio e alumínio dopado com érbio
KTP	Cristal de potássio Titanilfosfato (KTiOPO ₄)
ml	Mililitro
ppm	Partes por milhão
ROS	Espécies reativas de oxigénio
µm	Micrometro

1- INTRODUÇÃO

Em 1839, Christian Friedrich Schonbein notou, pela primeira vez, o surgimento de um gás pungente com um cheiro elétrico e chamou-o de ozônio, que significa exalar um cheiro em grego. Em 1940, a palavra ozônio foi introduzida. A terapia com ozônio actua como um tratamento médico alternativo que aumenta o conteúdo de oxigénio do corpo pela aplicação de ozônio nas superfícies do corpo. Os efeitos positivos do ozônio nas propriedades biológicas incluem efeitos antimicrobianos, imunoestimulantes e de biossíntese usados no tratamento e manutenção de uma boa higiene bucal. Na década de 1930, o Dr. EA Fisch usou, pela primeira vez, o ozônio no tratamento odontológico, sendo que o primeiro uso foi para desinfetar salas de cirurgia em 1856 (Sen & Sen, 2020).

Historicamente são encontrados registos de que os nativos americanos tinham encontrado uma relação entre o forte odor gerado por quedas de raios em dias de pesca bem-sucedidos. As viagens de pesca bem-sucedidas agora podem ser explicadas como sendo causadas por um aumento de oxigénio na camada superior da água. Desde então, o ozônio tem sido experimentado em vários aspectos da medicina dentária por mais de 100 anos, (Suh et al., 2019). Em 1870, o ozônio foi usado para purificar o sangue. Na década de 1930, o dentista Edward Fisch usou a ozonioterapia para desinfetar e curar feridas nas suas cirurgias dentárias com grande sucesso (Srikanth et al., 2013). Hoje, a ozonioterapia tem mostrado sucesso no tratamento de cicatrização de feridas; na cárie dentária; no líquen plano oral; na gengivite e periodontite; na halitose, em osteonecrose da mandíbula; no alívio da dor pós-cirúrgica; na diminuição da placa e biofilmes; em canais radiculares; na hipersensibilidade dentinária; assim como em distúrbios da articulação temporo-mandibular e branqueamento dos dentes (Daif, 2012; Seyam et al., 2018; Suh et al., 2019).

Clinicamente a ozonioterapia aparece como medida de tratamento de patologias como: o cancro, o HIV e a artrite reumatóide, e tem ainda tendência em ser aplicado a outros tipos de patologias. Como o ozônio é muito destrutivo para vírus, bactérias e fungos, todos organismos suspeitos de causar artrite reumatóide, o seu uso adequado só pode ser benéfico para os pacientes com artrite. O ozônio ainda tem sido usado para promover a

hemostasia, para aumentar o suprimento local de oxigénio e para inibir a proliferação bacteriana (Dolan et al., 2014)

A aplicação do ozónio na área da medicina dentária tem sido indicada para a prevenção e tratamento de diversas patologias. O bem-estar geral do indivíduo está directamente relacionado com sua saúde oral. Actualmente, como a maioria dos pacientes está a tornar-se mais resistente aos antibióticos, o ozónio está emergindo como um novo adjuvante terapêutico na saúde oral. A terapia com o ozónio é não traumática, indolor e não invasiva, o que aumenta a aceitabilidade do paciente.

A proliferação de células imunocompetentes e a síntese de imunoglobulinas são estimuladas graças a ação do ozónio no sistema imune celular e humoral. A função dos macrófagos é activada devido ao aumento da sensibilidade dos microrganismos à fagocitose, o que leva à produção de citocinas, que como consequência, faz com que outras células imunes sejam activadas (Sen & Sen, 2020).

O ozónio resulta em alteração no metabolismo das células, aumentando a pressão parcial de oxigénio nos tecidos e conseqüentemente melhorando a capacidade de transporte de oxigénio no sangue. O ozónio, quando administrado várias vezes, e em baixas doses, resulta em alterações no metabolismo das células aumentando a pressão parcial de oxigénio nos tecidos e melhorando a capacidade de transporte de oxigénio no sangue, activa enzimas como desidrogenase, superóxido dismutases, glutathiona peroxidases e catalases (Sen & Sen, 2020).

Ainda segundo Sen & Sen, (2020) o ozónio permite a activação da síntese de proteínas nas células, pois ajuda a aumentar as actividades dos ribossomas e das mitocôndrias favorecendo a regeneração dos tecidos, devido ao aumento da atividade funcional. O ozónio actua ainda nos vasodilatadores, como o óxido nítrico, que causa dilatação das artérias e veias. O óxido nítrico é usado ainda nas anestésias dos doentes.

Em estudos realizados onde o gás ozónio foi injectado no espaço articular superior, registou-se que a injeção intra-articular de gás ozónio conseguiu actuar nos desarranjos internos da ATM. O gás ozónio foi injectado no espaço articular superior. A terapia com ozónio demonstrou ser mais eficaz do que a medicação para o tratamento da dor relacionada com ATM (Dolan et al., 2014).

As desordens da articulação temporomandibular (ATM), também conhecidas como DTM, são um grupo de condições que resultam em dor na ATM, o que frequentemente limita a fala, a mastigação e outras actividades diárias básicas, provocando elevados níveis de incapacidade relacionada com a dor (Daif, 2012; Dolan et al., 2014; Lomas et al., 2018; Sharma et al., 2011). A etiologia das DTMs é pouco compreendida mas tem sido associada a vários factores, incluindo a má oclusão, o trauma, o stress emocional, os hábitos parafuncionais, a sinovite, a capsulite, a osteoartrite e o desarranjo interno da ATM (Celakil et al., 2019; Lomas et al., 2018; Manfredini et al., 2017; Sharma et al., 2011).

O distúrbio interno da ATM é definido como um distúrbio na relação anatómica normal, entre o disco e o côndilo mandibular e temporal, que pode causar dor e disfunção (Lomas et al., 2018). São vários os dados sobre a prevalência de DTM mas pelo menos cerca de 25% da população mundial tem distúrbios internos da ATM e estes, geralmente, são tratados com métodos não cirúrgicos. No entanto quando esses métodos não são bem-sucedidos, o distúrbio tem que ser tratado através da cirurgia da ATM (Daif, 2012; Lomas et al., 2018; Manfredini et al., 2017). A terapia reversível e conservadora, como terapia cognitivo-comportamental, fisioterapia, terapia farmacológica e aparelhos intraorais, deve ser considerada para o tratamento de primeira linha da DTM (Celakil et al., 2019). A terapia com goteiras é realizada usando vários tipos que vão desde goteiras de estabilização, posicionamento anterior ou aparelhos de plano de mordida. No entanto, os conceitos actuais revelam que a dor e Disfunção Temporomandibular dependem, fortemente, da capacidade adaptativa dos pacientes ao invés da posição do disco. Além disso, numerosas formas de intervenção fisioterapêutica, incluindo ultrassom e estimulação eléctrica nervosa transcutânea, podem ser potencialmente eficazes no manuseio da DTM para reduzir a dor e melhorar a amplitude do movimento mandibular (Dolan et al., 2014; Lomas et al., 2018; Manfredini et al., 2017)

Apesar dos medicamentos serem usados para tratar uma miríade de problemas como DTM, bruxismo (ranger de dentes), cefaleias tensionais crónicas e enxaquecas, eles ainda apresentam numerosos efeitos colaterais, que levaram os autores a tentar encontrar novas modalidades de terapia, como é o caso terapia com ozónio. A ozonioterapia é segundo Dolan et al. (2014) um método de fisioterapia frequentemente aplicado.

2- OBJECTIVO

O objectivo deste trabalho foi fazer uma revisão da literatura sobre a utilização de ozónio em medicina dentária, em especial no que diz respeito às disfunções da articulação temporomandibular, baseado na seguinte questão de pesquisa: “O uso de ozónio no manuseio da Disfunção Temporomandibular é uma alternativa de tratamento eficaz?”

3- METODOLOGIA

Foi feita uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados do PubMed, Scopus, Web of Science e B-on usando a seguinte combinação de palavras: (“ozone therapy” OR “ozone”) AND (“orofacial pain” OR “pain”) AND (“temporomandibular joint disorders” OR “DTM” OR “temporomandibular joint” OR “ATM”), sem limite de data. Foram selecionados apenas estudos em língua inglesa, que abordassem a utilização da ozonioterapia em medicina dentária.

4- DESENVOLVIMENTO

4.1 História do ozônio

O ozônio é um gás composto por três átomos de oxigênio: cujo peso molecular é de 47,98 g.mol⁻¹; é uma substância instável que rapidamente se decompõem, libertando átomos únicos de oxigênio, e a semi-vida é de 40 min a uma temperatura de 20°C. O ozônio é incolor e tem um cheiro característico. Ele existe na natureza como a camada de ozônio que protege os organismos dos raios ultravioletas. O ozônio, sendo mais pesado do que o ar, move-se para baixo onde se combina com os poluentes, e por isso ele é também conhecido como fenómeno de autolimpeza. É um oxidante extremamente forte, (1,5 vezes) mais forte que o cloreto quando comparado o seu potencial antimicrobiano (Baysan a. & Lynch e., 2005; Garg, 2009; Lubojanski et al., 2021).

O ozônio foi descoberto e nomeado pela primeira vez por CF Schonbein em 1840. Os nativos americanos, para quem a pesca era uma indústria central, reconheceram uma correlação entre uma captura bem-sucedida de peixes e um forte odor liberado pela ação de um raio após uma tempestade elétrica. Da mesma forma, os antigos gregos também notaram esse odor, que chamaram de ‘ozein’. Existem registos de que esses pescadores preferiam pescar após tempestades elétricas, um costume que prevalece ainda hoje. Como a camada superior da água do lago é enriquecida com oxigênio, esses fenômenos são explicáveis por um nível elevado de geração de ozônio nesta biosfera (Baysan A. & Lynch E., 2005; Garg, 2009; Lubojanski et al., 2021).

Até hoje, muitos estudos sobre a avaliação clínica do ozônio, infelizmente, têm sido baseados em avaliações de seus efeitos nocivos ao invés de demonstrarem os benefícios terapêuticos que ele possa, vir a oferecer. Na biosfera da Terra, o papel do ozônio é controverso. De facto, é um dos oxidantes mais poderosos da natureza e é reactivo a muitas biomoléculas. Essas “espécies reactivas de oxigênio” (ROS) podem ser

produzidas por raios ultravioleta do sol ou artificialmente com um gerador de ozônio. No primeiro caso, o ozônio é o principal constituinte da atmosfera responsável por bloquear a luz ultravioleta do sol e oxidar os poluentes do ar. No entanto, ele pode ser utilizado para fins de purificação de água e tratamento de esgoto (Baysan A. & Lynch E., 2005; Bocci, 2006; Bocci et al., 1998; Buckley et al., 1975; Garg, 2009; Kshitish & Laxman, 2010; Sies, 2021).

No século XIX o ozônio foi sugerido, pela primeira vez, como um desinfetante para se obter água potável, devido à sua poderosa capacidade de inativar microorganismos. De facto, muitos pesquisadores enfatizaram que o uso desse oxidante, por períodos de tempo limitados, pode efectivamente desinfetar o abastecimento de água, pois ele actua rapidamente e em concentrações mais baixas do que o cloro. Não apresenta efeitos colaterais como o sabor e o odor, característicos de outros desinfetantes; no entanto, quando em altos níveis de ozônio, foi considerado ineficaz quando usado como desinfetante, pois passa a ser insolúvel na água e pode desencadear efeitos adversos, tendo sido registados problemas toxicológicos decorrentes do seu uso em altas concentrações (Ajeti et al., 2018; Anumula et al., 2017; Baysan A. & Lynch E., 2005; Buckley et al., 1975; Camacho-Alonso et al., 2017; Krunić et al., 2019; Pietrocola et al., 2018; Sancakli et al., 2018; Sies, 2021).

O ozônio desinfecta destruindo, neutralizando ou inibindo o crescimento de microorganismos patogénicos, e tem-se mostrado um agente biocida alternativo eficaz frente ao cloro. O tratamento da água potável com ozônio com concentração de 0,35 mg/l demonstrou ser mais eficaz que o cloro na concentração de 50 mg/l de cloro nos esporos de *Bacillus subtilis*, e em populações de *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. Existem ainda dois estudos que indicaram que o ozônio também é um bactericida eficaz em células vegetativas, *B. megaterium*, *B. cereus* e esporos de *E. Coli* (Ajeti et al., 2018; Anumula et al., 2017; Baysan A. & Lynch E., 2005; Buckley et al., 1975; Camacho-Alonso et al., 2017; Krunić et al., 2019; Pietrocola et al., 2018; Sancakli et al., 2018; Sies, 2021).

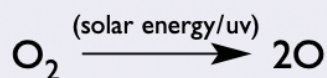
Nos EUA o ozônio tem sido escolhido ao invés vez do cloro, para a desinfecção do abastecimento público de água. A razão para isso é que o ozônio remove ainda as colorações do ferro e do íon manganés não produzindo sabores ou odores. Existe, no

entanto, uma grande desvantagem para este método, é que o ozônio é estável apenas durante um curto período de tempo, pois ele decompõem-se para formar oxigênio molecular, o qual acaba por ser metabolizado pela vida aquática, e deste modo acaba por desaparecer muito rapidamente dos sistemas hídricos. Com a água pré-tratada com ozônio, ele mata em dois segundos as bactérias pois rompe rapidamente as suas membranas celulares, já o cloro, por outro lado, simplesmente difunde-se na célula e demora cerca de 30 minutos para actuar como bactericida. A taxa de lise depende então dos níveis de ozônio, sendo que as concentrações mais altas de ozônio são usadas especialmente em sistemas altamente contaminados, enquanto que as concentrações mais baixas são usadas para manutenção da água (Baysan a. & Lynch e., 2005; Garg, 2009; Lubojanski et al., 2021).

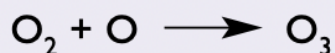
O ozônio é frequentemente encontrado no ar ambiente em níveis elevados que podem exceder o padrão nacional de qualidade do ar (agência de proteção ambiental dos Estados Unidos da América) de 0,12 ppm em média durante um período de uma hora. Os seres humanos estão continuamente expostos ao ozônio durante a sua vida diária e este facto pode colocar dúvidas sobre os seus possíveis efeitos nefastos à saúde (Baysan A. & Lynch E., 2005).

4.2 Aplicações médicas do ozônio

O ozônio tem a característica única de se decompor num material inofensivo, não tóxico e ambientalmente seguro (oxigênio). Este poderoso oxidante é produzido pela fotodissociação (ou seja, clivagem de ligação induzida pela energia luminosa) do O₂ molecular em átomos de oxigênio activados, que então reagem com outras moléculas de oxigênio (Figura 1, equações 1 e 2) (Baysan A. & Lynch E., 2005).



Equação 1



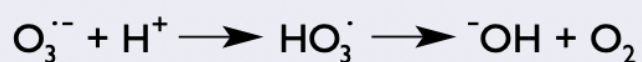
Equação 2



Equação 3



Equação 4



Equação 5

Figura 1: Equações de transformação do oxigénio em ozónio.

As duas ligações oxigénio-oxigénio na molécula de O₃ são de igual comprimento e de natureza intermediária entre as ligações simples e duplas oxigénio-oxigénio. A decomposição do ozónio (liberando O₂) é uma reacção exotérmica mas na ausência de catalisadores e de luz ultravioleta, a velocidade dessa reacção é muito lenta, mesmo em temperaturas DE 250°C. A sua decomposição é causada pela radiação ultravioleta solar na faixa de 240-300 nm através da reacção descrita na Figura 1, equação 3 (Baysan A. & Lynch E., 2005).

A reacção de doadores de elétrões solúveis em água com ozónio parece produzir o ânion radical ozónio, ou seja, um processo fácil para redutores com potenciais redox suficientes (Figura 1, equação 4). Este ânion radical transitório torna-se rapidamente protonado,

gerando HO₃. que, por sua vez, se decompõe em radical hidroxila (Figura 1, equação 5) (Baysan A. & Lynch E., 2005).

As reacções 4 e 5 (Figura 1) convertem o ozónio num oxidante ainda mais poderoso, o radical hidroxilo (-OH) este radical é extremamente reactivo, esta propriedade pode contribuir para cicatrização de lesões tecidulares, os efeitos dos radicais livres na periodontite, em especial a nível da destruição do tecido periodontal, este efeito tem sido extensivamente avaliado (Baysan A. & Lynch E., 2005).

Este poderoso agente reage com muitos componentes do sangue, tais como lipoproteínas; proteínas plasmáticas; linfócitos; monócitos; granulócitos; plaquetas e eritrócitos, numa reacção de defesa à geração de oxidantes. Os diversos sistemas antioxidantes são activados e passam a produzir enzimas antioxidantes e compostos degradados, no entanto se for ultrapassado o limiar de toxicidade o seu efeito passa a ser altamente citotóxico e produz hemólise (Baysan A. & Lynch E., 2005).

A semi-vida do ozónio é curta e este oxidante converte-se rapidamente em oxigénio desencadeado pela temperatura, assim o ozónio pode afectar positivamente a microcirculação, a melhoria do metabolismo do oxigénio, o aumento da energia celular, a acção imunomoduladora e o aprimoramento do sistema de defesa antioxidante, todos efeitos benéficos justificando por isso a sua aplicação na medicina. O uso de terapia com ozónio na maculopatia degenerativa da retina relacionada à idade, deve-se à diminuição na peroxidação lipídica, ao aumento na superóxido dismutase e numa enzima sequestradora de superóxido de anião oxigénio. Há então um aumentando do sistema de defesa antioxidante (Baysan a. & Lynch e., 2005).

4.3 Métodos de administração do ozónio

O primeiro gerador de ozónio foi o desenvolvido por Werner Von Siemens na Alemanha em 1857, e o primeiro relato de seu uso terapêuticamente foi para fins de purificação do sangue em 1870. Até hoje, a ozónio terapia tornou-se uma modalidade terapêutica reconhecida em pelo menos 16 países, no entanto os ensaios clínicos duplamente cegos e

devidamente controlados são necessários para verificar realmente a sua eficácia (Baysan a. & Lynch e., 2005).

Actualmente, vários e diferentes tipos de geradores de ozónio são utilizados na terapia clínica, assim temos os métodos (Baysan A. & Lynch E., 2005):

- Descarga eléctrica, envolvendo um tubo com cátodo quente cercado por um ânodo de tela. O sistema de entrega de ozónio (healozone, curzone, kavo, biberach, alemanha) este método é actualmente usado para o controle de cáries radiculares, mecanismo é um tipo de gerador de ozónio de descarga eléctrica;
- Produção de ozónio a partir do oxigénio em que uma estreita faixa de frequência de luz ultravioleta é aplicada;
- Método descrito pelo termo “plasma frio” que envolve um dispositivo construído a partir de duas varetas de vidro preenchidas com um gás nobre inerte, que é excitado por alta voltagem, a tensão desenvolvida actua entre as hastes, formando um campo de plasma eletrostático, que converte o oxigénio presente em ozónio. O gerador de plasma frio foi originalmente inventado por Nikola Tesla na década de 1920, mas ainda hoje está em uso.

Em medicina dentária, são utilizadas três formas diferentes de ozónio: ozónio gasoso, água ozonizada e óleo ozonizado (óleo de girassol, azeite, óleo de amendoim) (Ajeti et al., 2018; Anumula et al., 2017; Baysan A. & Lynch E., 2005; Krunic et al., 2019; Lubojanski et al., 2021; Pietrocola et al., 2018).

4.4 Efeito antibacteriano do ozónio

Existem inúmeros estudos de pesquisa que descrevem a actividade antibacteriana do ozónio contra patógenos orais (Ajeti et al., 2018; Anumula et al., 2017; Camacho-Alonso et al., 2017; Krunic et al., 2019; Pietrocola et al., 2018; Sancakli et al., 2018; Tuncay et al., 2015). Um desses estudos avaliou o efeito antibacteriano do ozónio contra a cultura patogênica de *Enterococcus faecalis* num modelo de dentes humanos. As amostras foram divididas em quatro grupos e para cada um deles foi aplicado um tratamento diferente (o

ozônio, a desinfecção fotoactivada, e o soro fisiológico como controle positivo e NaOCl como controle negativo). Após 7 dias de incubação, os valores de unidade formadora de colónias foram calculados, e tanto a ozonização como a desinfecção fotoactivada revelaram-se eficazes porque o número de colónias crescidas foi reduzido (Tuncay et al., 2015).

Pesquisa semelhante foi realizada por Camacho-Alonso et al. (2017), que compararam a actividade contra *Fecalis*. O ozônio mostrou sua eficácia quando aplicado com a solução de NAOCL, a clorexidina, e uma mistura triantibiótica de própolis e terapia fotodinâmica. Uma comparação de um grupo maior de procedimentos antibacterianos foi realizada por (Sancakli et al., 2018), que analisaram não apenas o método de ozonização, mas também a clorexidina e a terapia com laser ER:YAG (laser de granada de ítrio e alumínio enriquecido com érbio), cristal KTP (cristal de potássio titanilfosfato), isoladamente ou em combinação, contra *streptococcus mutans*. Os resultados obtidos revelaram que os procedimentos mais eficientes foram a clorexidina, a combinação de laser ER:YAG com ozônio, laser ER:YAG com ozônio e clorexidina e a combinação do laser KTP com ozônio e ozônio e clorexidina. Geralmente, a ozonização e a terapia a laser aplicadas isoladamente foram insuficientes e exigiram a combinação com outros factores. Quando isoladamente o ozônio apresentou um efeito mais fraco que a clorexidina Camacho-Alonso et al. (2017), (Sancakli et al., 2018).

A actividade antibacteriana perante o ozônio gasoso, o azeite ozonizado, foi também estudado usando o teste de difusão em ágar de contacto directo, a medição das zonas de inibição bacteriana e os agentes bacterianos foram a *Aggregatibacter*, *actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans* e *Prevotella. Intermedia*. O Azeite ozonizado inibiu o crescimento de todas as cepas testadas mas, mais uma vez, o efeito antibacteriano foi sempre mais fraco do que a clorexidina, a qual foi usada como amostra de referência. Os autores também avaliaram concentrações inibitórias mínimas (CIM) e concentrações bactericidas mínimas (CBM) usando o método padrão de diluição em caldo, no entanto, apenas uma solução de 10% de azeitona ozonizada foi capaz de inibir o crescimento do *actinomycetemcomitans*, a *S. mutans* e *P. intermedia*, nenhum valor de CIM pode ser determinado nas concentrações do óleo de 0,01-10%. Consequentemente, os valores de CBM também não foram determinados. Esse resultado não foi no entanto satisfatório, principalmente quando comparado com o obtido pela formulação da clorexidina, onde uma solução a 0,01% já era bactericida (Pietrocola et al., 2018).

Existem também inúmeros trabalhos que descrevem ensaios clínicos com ozônio, um destes estudos Krunic et al., em 2019, em doentes com lesões cariosas profundas foi aplicado ozônio, num noutro a clorexidina. As experiências foram realizadas usando saliva para isolar microrganismos, *lactobacillus spp.* bem como em todas as bactérias isoladas. Os dados recolhidos, no entanto, demonstraram que ambos os procedimentos de tratamento aplicados causaram redução no número de bactérias, porém, a aplicação da clorexidina foi sempre o procedimento mais eficaz.

Experiências *in vivo* realizados por Ajeti et al., em 2018 foi avaliada a eficácia antibacteriana do ozônio combinado com 0,9% de NaCl; combinado com clorexidina 2% ou combinado com 2,5% de NaOCl. A mais eficaz de todas as combinações testadas foi a combinação de ozônio com 2,5% de NaOCl.

Além do ozônio gasoso e do azeite ozonizado, a água ozonizada também é aplicada para reduzir o risco de infecção microbiana, um estudo clínico realizado por Anumula et al. (2017), os pacientes foram divididos em dois grupos: um grupo recebeu clorexidina e o outro água ozonizada como elixir oral. As amostras de saliva recolhidas nos tempos 0 dias, 7 dias e 14 dias foram diluídas e cultivadas para cálculo dos valores de UFC/ML. Os resultados obtidos foram promissores, pois o número de colônias de *s. mutans* diminuiu, com a água ozonizada, e o efeito foi ainda mais visível do que para a clorexidina.

Nos estudos pesquisados observou-se sempre um potencial antibacteriano de todas as diferentes formas de ozônio, mas o seu efeito melhora se ele for combinado com outras técnicas pois obtiveram-se sempre melhores resultados (Ajeti et al., 2018; Anumula et al., 2017; Camacho-Alonso et al., 2017; Krunic et al., 2019; Pietrocola et al., 2018; Sancakli et al., 2018; Tuncay et al., 2015).

O ozônio é muito eficiente em estirpes resistentes a antibióticos, e o seu efeito aumenta em pH ácido, pois ele influencia a imunidade celular do organismo humano. O ozônio estimula a proliferação de células imunocompetentes e a síntese de imunoglobulinas, assim como activa, ainda, a função do macrófago contra a fagocitose. Uma concentração mais elevada de ozônio mata as bactérias muito mais rapidamente e é 1.000 vezes mais poderoso do que qualquer outro agente contra bactérias pois uma molécula de ozônio equivale a 3.000-10.000 moléculas de cloro, agindo, assim, eficazmente contra microorganismos 3.500 vezes mais rápido (Abinaya et al., 2018; Ajeti et al., 2018).

4.5 Efeitos do ozônio no corpo humano

O organismo dos animais superiores relaciona-se com a estabilidade do meio celular interno com muitos ritmos diários do corpo, com a temperatura, a secreção de hormônios e muitos outros, com a importância da resposta de cada organismo em relação à sua própria especificidade em termos de busca ou manutenção do equilíbrio e integridade funcional do mesmo. Com base na propriedade multiponto da alostase, poderíamos imaginar o sistema alostático como um “sistema tampão” especial.

O termo “stress” refere-se a um evento ou série de eventos que evocam um conjunto de respostas fisiológicas. O stress quando direcionado é descrito como “stress oxidativo” e provoca respostas adaptativas nas células. Por outro lado, o "sofrimento oxidativo" é o resultado da superprodução crônica e descontrolada de metabolitos nocivos que podem resultar em dano tecidual e estes podem levar à formação de espécies reactivas e serem em termos de acção denominados de agudos ou crónicos e de configuração subcelular ou na corrente sanguínea.

O uso correcto relativamente à dosagem dos agentes químicos com acção pró-oxidante são a base de abordagens terapêuticas caracterizadas por um efeito paradoxal no organismo, um stress bem controlado, leve e transitório pode provocar uma reacção curativa em um organismo doente. O ozônio em condições normais é uma molécula muito instável e pode ser representada por três fórmulas intercambiáveis (Sies, 2021; Tricarico & Travagli, 2021).

O potencial eletroquímico máximo na fase gasosa é $E^{\circ} = +2,07 \text{ V}$. E as consequências dessa intensa carga elétrica fazem com que o ozônio participe em reacções como um agente oxidante excepcionalmente poderoso. Por outro lado, o simples contacto de uma mistura gasosa de oxigénio/ozônio com um líquido biológico (por exemplo, sangue, saliva, exsudado, transudado) provoca uma reacção com os compostos orgânicos e leva à formação de compostos peróxidos e/ou à adição de ligações com a formação de ozonídeos mas em muitos casos apenas como intermediários. Esses dados, que são razoáveis do ponto de vista teórico, permanecem, no entanto, difíceis de analisar e avaliar devido à

natureza complexa dos tipos de reacção. Por outro lado, é importante avaliar a carga eléctrica com amplitude suficientemente forte para gerar perturbação persistente do campo eletromagnético, a conseqüente interacção do próprio campo eléctrico da célula, e dos seus componentes citoplasmáticos e os tecidos dos quais são compostos (Tricarico et al., 2020; Tricarico & Travagli, 2021; Zhao et al., 2021).

Independentemente desses factos, o ozónio gasoso é, na verdade, uma substância muito tóxica para todos os seres vivos, mas como todas as outras substâncias usadas em farmacologia, essa toxicidade também é o princípio em que se baseiam os seus efeitos terapêuticos. A toxicidade do ozónio para o sistema respiratório permanece verdadeira mesmo quando pequenas quantidades de ozónio (nível abaixo de valor 0,2 a 0,3 ppm) são inspiradas durante dias ou meses. Esta toxicidade ocorre porque cerca de 70 m² da superfície alveolar humana estão desprotegidas por uma camada mínima de fluido de revestimento e, portanto, existe uma protecção antioxidante insuficiente (Bocci, 2006).

Após a invenção do primeiro gerador médico de ozónio, pelo físico Joachim Hänsler (1980), o médico Hanswolff em 1980 desenvolveu a auto-hemoterapia ozonizada por insuflação de uma mistura gasosa composta no máximo por 5% de ozónio e a parte restante de O₂ em sangue contido num frasco de vidro estéril resistente ao ozónio (Tricarico & Travagli, 2021).

Este tratamento, segundo Wehrli, é inspirado na terapia de oxidação hematogénica e na auto-hemorradiação ultravioleta (UV) em sangue extracorporal misturado com oxigénio sob radiação UV e a sua reinfusão no mesmo paciente (Tricarico & Travagli, 2021).

Até à década de 80, a ozonioterapia era utilizada com frequência na Alemanha mas de uma forma empírica sem se conhecerem os mecanismos de acção do ozónio dissolvido no sangue humano. Entre 1990 e a actualidade muitos estudos elucidaram os mecanismos de acção bioquímicos, imunológicos e moleculares da ozonioterapia não tóxica, especialmente, graças aos métodos de aplicação clínica de facto, no caso da ozonioterapia a sua toxicidade torna-se nula porque o tratamento é efectuado com uma dose calibrada (Bocci, 2006; Bocci et al., 1998; Cisterna et al., 2020; Larini & Bocci, 2005; Travagli et al., 2010; Tricarico & Travagli, 2021; Zhao et al., 2021).

4.6 Uso do ozônio em medicina dentária

O ozônio possui várias indicações de uso em medicina dentária, de acordo com Sen & Sen (2020), podemos agrupar os principais usos do ozônio na seguinte tabela (tabela 1).

Tabela 1: Principais usos do ozônio em medicina dentária.

1	Uso de água ozonizada pelos pacientes como elixir oral em pré-tratamentos e como antiséptico oral
2	Uso de água ozonizada no consultório dentário de modo a evitar a formação de biofilme
3	Uso de água ozonizada pode ser usada numa unidade ultrassónica para profilaxia oral
4	Aplicação de gás ozonizado antes de se colocar os selantes dentários
5	Aplicação de gás ozônio e água em cáries de superfície radicular
6	O gás ozonizado pode ser aplicado durante e após os preparos cavitários
7	Gás ozonizado aplicado durante os preparos dos dentes para a colocação de coroas
8	Para reduzir a sensibilidade pós-operatória
9	Em água ou óleo de ozônio de forma a actuar como dessensibilizante oxidando o material orgânico nos túbulos dentinários
10	A água ozonizada pode ser usada como solução irrigadora para bolsas gengivais e periodontais profundas
11	Moldeiras personalizadas intrabuciais com ozônio são utilizadas em lesões cariosas, áreas e, risco, na região interproximal e nas restaurações dos dentes
12	A solução de ozônio ajuda a recuperar a calcificação das lesões iniciais de cárie
13	Ao irrigar os canais radiculares principais e acessórios a ozonoterapia remove destes detritos decorrentes da instrumentação. Mas não só
14	Nas formulações água ozonizada e gás ozonizados podem ser injectados intraarticularmente na articulação temporomandibular
15	A aplicação de óleo ozonizado e o enxaguar com água ozonizada duas vezes ao dia e durante 7 dias ajuda a curar lesões orais, tais como a úlcera aftosa, a queilite angular, e a candididite
16	Em casos de estomatite induzida por próteses dentária pode ser aplicado azeite ozonizado sobre a área mucosa de suporte da prótese
17	O ozônio auxilia ainda no clareamento dos dentes, em especial quando usado como adjuvante do peróxido de hidrogénio.

Ainda de acordo com Sen & Sen, (2020) podemos salientar algumas das condições que contra indicam a terapia com ozônio, estas estão descritas na tabela 2

Tabela 2: contraindicações ao uso da ozonioterapia.

1	Gravidez
2	Hipertireoidismo
3	Trombocitopénia
4	Doentes imuno deprimidos
5	Anemias graves
6	Deficiência de glicose 6 fosfato desidrogenase
7	Intoxicação alcoólica
8	Infarte do miocárdio
9	Hemorragia
10	Alergia ao ozônio
11	Infarto do miocárdio recente

Dependendo da necessidade de tratamento, o ozônio é aplicado por 6, 12, 18, ou 24 segundos pelo ozotop (figura 2). Trata-se de um sistema de entrega de ozônio utilizado em tratamentos endodônticos dos canais radiculares e no tratamento das bolsas periodontais. Para desinfecção cirúrgica ele é usado por 12 segundos, enquanto que para a desinfecção periodontal é usado por 18 segundos (Kumar et al., 2014; Sen & Sen, 2020).

O gás ozônio não tem cor mas tem um cheiro pungente à temperatura ambiente, RLR que pode ser detetado mesmo em concentrações tão baixas quanto 0,02–0,05 ppm. A semi-vida do ozônio está dependente da temperatura ambiente, assim, a uma temperatura de 20°C ele apresenta uma semi-vida de 40 minutos, mas se a temperatura estiver a 0°C a sua semi-vida aumenta para 140 minutos (Kumar et al., 2014; Sen & Sen, 2020).



Figura 2: Aparelho ozotop, usado para aplicação de ozônio em medicina dentária.

O ozônio a 0,05 ppm administrado por 8 horas não produz nenhum efeito tóxico. A concentração máxima de ozônio é de 0,01 ppm, durante o tratamento odontológico. Provoca poucos efeitos colaterais, no entanto alguns doentes podem ter tosse, náuseas, vômitos, dor de cabeça, rinite, irritação no tracto respiratório, falta de ar e alterações cardíacas (Kumar et al., 2014; Sen & Sen, 2020).

Como já falamos anteriormente a inalação de ozônio causa efeito tóxico nos pulmões e pode desencadear efeitos colaterais comuns tais como: epífora, irritação do tracto respiratório superior, rinite, tosse, dor de cabeça, náuseas e vômitos ocasionais (Kumar et al., 2014; Sen & Sen, 2020).

Como o ozônio é um oxidante muito forte, eliminar o excesso de gás ozônio e evitar que ele escape para os tecidos são questões preocupantes, pois podem alterar as membranas dos olhos e serem inalados para os pulmões, tecidos estes que são muito fracamente protegidos por enzimas antioxidantes (Kumar et al., 2014; Sen & Sen, 2020).

Então são só alguns os tecidos que requerem proteção dos níveis de dosagem que são usados nos protocolos odontológicos de ozônio. Atenção no entanto que soluções injectáveis intravenosas de ozônio podem causar embolias gasosas (Kumar et al., 2014; Sen & Sen, 2020).

4.6.1 Descontaminação das unidades de água da cadeira odontológica

Recentemente, tem crescido a preocupação com a qualidade da água que sai nas linhas de água dos equipamentos dentários. Várias pesquisas demonstraram que a maioria das linhas de água das unidades odontológicas é fornecida por água da torneira em consultórios médicos. O número de microrganismos encontrados em amostras de água colectadas em unidades odontológicas podem exceder os limites actuais para a qualidade da água e são percebidos como poderem ser um risco potencial para a saúde dos pacientes e da equipe odontológica (Baysan A. & Lynch E., 2005)

O ozônio tem sido utilizado com sucesso no tratamento de linhas de água dos equipamentos dentários desde a década de 1990. São vários os estudos que demonstraram que o efeito antimicrobiano do ozônio nas linhas de água dos equipamentos dentários duraram mais do que com a utilização dos agentes convencionais, como peróxido de hidrogênio/soluções de íons de fita *in vivo e in vitro*. Testes do efeito de ozônio em *pseudomonas aeruginosa*, um microrganismo potencialmente patogénico, que é frequentemente encontrado em linhas de água das unidades odontológicas têm sido desenvolvidos. Após o tratamento da água com ozônio com valores de 10 µg de ozônio/ml, esta, ao analisada, não foram detectados microrganismos na água, e existem mais estudos realizados e publicados disponíveis na literatura sobre a eficácia do ozônio para limpeza de linhas de água dos equipamentos dentários na literatura (Baysan A. & Lynch E., 2005).

4.6.2 Solução antisséptica para uso oral

A água ozonizada foi considerada uma alternativa a uma solução isotônica estéril para enxague oral durante cirurgias odontológicas ou após processos de extração de dentes. A água iozonizada aplicada diariamente pode acelerar a cicatrização da mucosa oral, e esse efeito foi observado nos dois primeiros dias de pós-operatório. Entre o segundo e o sétimo dia pós-operatório não foram observados mais efeitos relacionados com o uso do ozônio, no entanto foi considerado que o efeito observado nas primeiras 48 horas modificou o encerramento final da ferida, pois sob a influência do ozônio, mais feridas foram encerradas após sete dias e a proliferação celular começou mais cedo. Concluiu-se então que o uso do ozônio era totalmente seguro, e este se dissipava muito rapidamente na água. No entanto, as propriedades medicamentosas relevantes da água ozonizada em cirurgia oral ainda requerem mais pesquisas (Baysan a. & Lynch e., 2005).

O ozônio é aproximadamente dez vezes mais solúvel em água do que o oxigênio, misturado em água, a semi-vida do ozônio é de 10 horas (em pH 7 e A 20° C), mas a 0°c essa semi-vida é dobrada. A água ozonizada mostrou-se eficaz como adjuvante da cirurgia oral e foi relatada como promotora da hemostasia, aumentando o suprimento local de oxigênio e inibindo a proliferação bacteriana, quando aplicada durante a cirurgia ou após extrações dentárias (Baysan A. & Lynch E., 2005).

A água ozonizada inibiu fortemente a acumulação de placa dentária experimental, e foi altamente eficaz em matar microrganismos orais gram-positivos e gram-negativos, chegando a não se encontrar quase nenhum microrganismo após tratamento com água ozonizada a 4 mg/Ldurante 10 seg (Almaz & Sönmez, 2015).

Também, Garg, (2009) e Sen & Sen (2020) referem qua ela ajuda na redução da halitose, pois ao bochechar com água com ozônio 4ml por 10seg os microrganismos orais bacterianos e fúngicos presentes na placa dental são mortos, reduzindo assim a halitose causada por microrganismos orais na placa, há então a remoção de agentes patógenicos bacterianos assim como um biofilme de placa sobre as superfícies dos dentes (Garg, 2009; Sen & Sen, 2020).

4.6.3 Terapia com ozônio no controle da cárie

Holmes em 2004 avaliou, num grupo populacional mais velho, o efeito na gravidade clínica de lesões cariosas de raiz primária não cavitadas quando combinado o uso diário de um kit de paciente remineralizante e um sistema de liberação de ozônio. Este autor concluiu que com bochechos durante apenas 40 segundos foi possível reverter lesões de cárie, tendo-se encontrado ao fim de 18 meses de aplicação uma reversão e uma remineralização a 100%. Cáries radiculares primárias não cavitadas podem ser tratadas de forma não cirúrgica usando ozônio e produtos remineralizantes. Este autor sugere que este regime de tratamento seja uma alternativa eficaz ao tratamento restaurador convencional.

Foi também realizado um estudo que avaliou o efeito do ozônio sobre a flora microbiana e a gravidade clínica das cáries radiculares primárias *in vivo*, numa biópsia feita de metade de cada lesão antes e após a aplicação de ozônio, e as contagens microbiológicas foram determinadas e comparadas. Os autores relataram que a aplicação de ozônio por 10 segundos ou 20 segundos em lesões de cárie radicular primária reduziu drasticamente a maioria dos microrganismos sem quaisquer efeitos colaterais registados em intervalos de recuperação entre 3 meses e 5,5 meses. A aplicação de gás ozônio em lesões de cárie de fissura oclusal não cavitadas tem um efeito de melhoria em pacientes com alto risco de cárie. (Almaz & Sönmez, 2015).

O ozônio ajuda ainda na prevenção da cárie dentária, e a exposição ao ozônio por mais de 30 segundos causa degradação das proteínas salivares. As bactérias *S. Actinomyces naeslundii*, *streptococcus mutans* e *lactobacillus casei* que são os principais organismos causadores da cárie dentária são mortos quando expostos ao ozônio por 30 segundos. A utilização de ozônio pode também reduzir a hipersensibilidade dentinária desencadeada principalmente pelo atrito e abrasão das superfícies do dente em que há perda do esmalte e expõe os túbulos dentinários, o ozônio permite a difusão de íons cálcio e fósforo para

as camadas mais profundas da dentina dos túbulos dentinários expostos, reduzindo assim a hipersensibilidade dentinária (Sen & Sen, 2020).

4.6.4 Uso de ozônio em endodontia

Durante o tratamento endodôntico o ozônio auxilia na esterilização dos canais radiculares, ou seja, os canais radiculares são preparados e lubrificados com óleos ozonizados e depois irrigados com solução ozonizada e secos. Seguido com insuflações de 60 segundos em cada canal de ozônio antes da obturação do canal radicular, prevenindo assim as cáries e as infecções (Sen & Sen, 2020).

4.6.5 Terapia com ozônio no manejo de doença periodontal

O ozônio tem uma forte actividade antibacteriana contra microrganismos periodonto patogénicos, mas o seu efeito bactericida é reduzido na presença de fluído gengival, então o ozônio pode ter potencial como aplicação adjuvante ao tratamento mecânico em pacientes com periodontite (Baysan A. & Lynch E., 2005).

Ajuda a desinfetar as bolsas gengivais e periodontais que estão comumente colonizadas por microrganismos gram-positivos e gram-negativos. Estas bolsas devem, após a profilaxia oral e o alisamento radicular, ser irrigadas com água ozonizada, provocando deste modo uma limitação ao crescimento do microrganismo onde houve a aplicação do gás ozônio. Além disso, o óleo ozonizado também deve ser aplicado topicamente nos tecidos moles pois as bactérias no centro da infecção são destruídas, sem que surjam efeitos colaterais (Hayakumo et al., 2013; Kshitish & Laxman, 2010; Sen & Sen, 2020).

4.6.6 Terapia com ozônio no manejo de Disfunção Temporomandibular

A articulação temporomandibular é uma articulação sinovial bilateral formada pelo côndilo mandibular e a cavidade glenóide do osso temporal, pelo disco articular, que permite movimentos articulares entre eles, e por fim pelos músculos e pelos ligamentos. É a articulação mais activa do corpo e precisa ser aberta e fechada aproximadamente 2.000 vezes ao dia durante a mastigação, a fala, a respiração, a deglutição e o bocejo. Nesta articulação, as superfícies articulares são compostas de cartilagem hialina ao contrário da maioria das articulações sinoviais do corpo que são cobertas pelo tecido fibroso. Esta articulação é o único sistema articular que tem um ponto final de encerramento definido e rígido que são as calcificações das superfícies oclusais dos dentes. Como os côndilos direito e esquerdo são partes de uma mandíbula móvel, a articulação temporomandibular de um lado não pode ter função sem o movimento da articulação do outro lado. A Disfunção Temporomandibular (DTM) é uma doença multifatorial que causa dor na área da mandíbula e da face com origem não dentária (Alomar et al., 2007; Haghghat & Oshaghi, 2020; Murphy et al., 2013; Singh et al., 2017).

Os distúrbios da articulação temporomandibular incluem distúrbios musculares, distúrbios de disco e côndilo e distúrbios articulares inflamatórios, ou seja, qualquer factor que possa alterar a função normal dos músculos mastigatórios, do fluído articular, dos ligamentos, dos tecidos do disco e do côndilo, e perturbar o equilíbrio normal dos tecidos participantes na articulação temporomandibular (Alomar et al., 2007; Chisnoiu et al., 2015; Haghghat & Oshaghi, 2020; Murphy et al., 2013; Verma et al., 2012).

Os factores etiológicos para a ocorrência de distúrbios da articulação temporomandibular incluem factores adquiridos tais como infeção, lesões iatrogénicas (cirurgia, radioterapia, hábitos, tumores e, finalmente, factores idiopáticos), factores hereditários (como microsomia hemifacial, atrofia hemifacial, artrite reumatoide em jovens e onicolise), e outros factores, (como espasmos musculares, contato oclusal inadequado, stress, doenças sistêmicas) e factores imunológicos. Alterações teciduais e factores psicológicos são os

principais factores predisponentes na ocorrência de DTMs. (Alomar et al., 2007; Chisnoiu et al., 2015; Haghghat & Oshaghi, 2020; Murphy et al., 2013; Verma et al., 2012).

A DTM pode não apresentar sintomas nos estadios iniciais mas nos estadios avançados podem ser seguidos por sinais e sintomas clínicos tais como a dor e a disfunção. Os exames radiográficos como; ressonância magnética e tomografia computadorizada fazem parte das avaliações clínicas de rotina das DTMs, e o seu principal objectivo é confirmar alterações degenerativas ósseas nos componentes articulares e diagnosticar o deslocamento do disco. A literatura sobre o assunto é bastante rica, alguns dos relatórios abordaram a epidemiologia dos distúrbios e outros sobre os sintomas que devem ser observados no diagnóstico do distúrbio (Chisnoiu et al., 2015; Haghghat & Oshaghi, 2020; Murphy et al., 2013; Singh et al., 2017).

Hoje, vários parâmetros morfológicos das DTMs podem ser avaliados de forma completa e precisa pelo desenvolvimento de novas técnicas imagiológicas, como tomografia computadorizada de feixe cônico. (Alomar et al., 2007; Chisnoiu et al., 2015; Haghghat & Oshaghi, 2020; Verma et al., 2012).

Existem diferentes formas de abordar quando sabemos o agente etiológico da Disfunção Temporomandibular. A terapia pode ser uma combinação de tratamento medicamentoso como por exemplo analgésico, relaxantes musculares ou até mesmo antidepressivos tricíclicos, com accões físicas, o uso de dispositivos orais como é o caso das goteiras ou a fisioterapia (Azarpazhooh & Limeback, 2008; Baysan A. & Lynch E., 2005; Bocci, 2006; Haghghat & Oshaghi, 2020; Lubojanski et al., 2021; Rowen, 2018; Sen & Sen, 2020).

A injeção intra-articular na articulação com pequenas quantidades de anestésico e outros medicamentos como ácido hialurônico, têm sido métodos de tratamento inovadores tal como a terapia de ozónio. A comunidade médica tem chegado à conclusão que eles têm muitos recursos e como tal podem tratar uma variedade de problemas articulares e ósseos (Azarpazhooh & Limeback, 2008; Baysan A. & Lynch E., 2005; Bocci, 2006; Haghghat & Oshaghi, 2020; Lubojanski et al., 2021; Rowen, 2018; Sen & Sen, 2020).

O ozónio é um gás incolor do qual cada uma de suas moléculas é composta por três átomos de oxigénio. Estes átomos estão conectados de maneira completamente instável, e por isso esta substância tem um efeito oxidante nos compostos orgânicos devido à sua

carga positiva. Essa capacidade é, no entanto, benéfica para neutralizar células estranhas que têm carga negativa, como são as bactérias, as leveduras, os vírus e os parasitas, removendo em alguns casos as infecções activas. (Azarpazhooh & Limeback, 2008; Baysan A. & Lynch E., 2005; Bocci, 2006; Haghighat & Oshaghi, 2020; Lubojanski et al., 2021; Rowen, 2018; Sen & Sen, 2020)

O ozónio usado clinicamente é feito de oxigénio puro, ele é prescrito em doses de tratamento precisas e o seu efeito ao nível do organismo humano tem sido comprovado por vários estudos científicos, ou seja, ele é altamente compatível com o corpo e tem menos efeitos colaterais quando comparado com outros fármacos. O ozónio é convertido em oxigénio normal (O₂) cerca de 8 minutos após entrar no corpo, durante essa conversão gera-se alguma energia e raios gama que aceleram ainda mais a cicatrização das células danificadas (Haghighat & Oshaghi, 2020; Hayakumo et al., 2013; Rowen, 2018).

Muitos autores relataram o uso da injeção de gás ozónio para o tratamento da artrite reumatóide do joelho e referem nos seus estudos a segurança e a eficácia do uso da injeção de gás ozónio.

Alberto Alexandre & Andrea Alexandre em 2015, e Wang et al. em 2018 afirmam que após a injeção de gás ozónio na articulação do joelho, este teve a capacidade de diminuir a inflamação e melhorar a função do joelho. O gás ozónio impede a liberação de enzimas proteolíticas ou citocinas pró-inflamatórias e estimula a proliferação de fibroblastos e condrócitos com o aumento da síntese da matriz e da cartilagem articular. Além da sua acção anti-inflamatória, o gás ozónio exerce os seus efeitos terapêuticos ao acelerar o uso da glicose no metabolismo celular e ao melhorar o metabolismo protéico, convertendo ácidos gordos insaturados em compostos hidrossolúveis e aumentando a actividade eritrocitária. O uso de injeção intra-articular de gás ozónio pode ser uma forma eficaz de aliviar a dor crónica associada à doença. (Haghighat & Oshaghi, 2020; Türkyılmaz et al., 2020)

Doğan et al. em 2014 apresentou um estudo, ensaio clínico, com 63 pacientes diagnosticados com DTM, de onde, 33 pacientes foram tratados com ozónio oxidativo e 30 pacientes foram tratados com cápsulas de tioglicosídeo de comprimidos de cetoprofeno por 7 dias e foi avaliado a abertura bucal antes e depois do tratamento. A abertura média da boca pré-experimental no grupo em tratamento com ozónio no período

pré-experimental foi de $46,51 \pm 8,2$ mm, e após 1 semana de ozônio, esse valor aumentou imediatamente para $48,78 \pm 7,5$ mm, o que foi estatisticamente significativo ($P = 0,04$). Já no outro grupo, a média foi de 46,30 mm no período pré-experimental ou seja antes do tratamento e 46,9 mm ao final. No geral, os resultados do tratamento não foram bons, mas foram promissores.

Num estudo de ensaio clínico, Celakil et al. (2019) examinaram 40 pacientes que foram alocados aleatoriamente em dois grupos de 20 pacientes cada; o grupo que foi tratado com ozonioterapia e restantes (20 pacientes) o grupo que foi tratado com placa oclusal. O primeiro grupo foi tratado com ozônio três vezes por semana por um total de 6 sessões. Os pacientes com placa oclusal foram solicitados a usar placas de contenção todas as noites por um período de 4 semanas. Os resultados mostraram que o tratamento com placa oclusal ainda era um tratamento de primeira linha para o tratamento e o alívio da dor em pacientes com DTMs.

Özalp et al. em 2019, realizou um estudo em que aplicou terapia de ozônio em pacientes (n. 40) com DTM. Os pacientes foram tratados bilateralmente três vezes por semana com a aplicação através de um gerador de ozônio com elevada frequência de ozônio, intensidade de 80% e durante 10min. Os níveis de dor e o valor máximo de abertura intermediária foram avaliados antes e após a intervenção. O aumento da abertura intermediária média foi alcançado após a ozonioterapia, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa, no entanto, nos níveis de dor houve uma diminuição média da escala de dor tendo sido estatisticamente significativa.

Num estudo de ensaio clínico, (Reyes & Castillo, 2021) trataram 57 pacientes com ozônio. O volume de 3 ml, equivalente a 0,03 mg em duas vias, foi utilizado dez vezes. A dor diminuiu antes do quarto uso de ozônio (100%). Foi observado uma melhora na limitação da abertura da boca e no desvio e desvio da mandíbula.

Num outro estudo de ensaio clínico, Daif, (2012) estudou 60 pacientes (49 mulheres e 11 homens) com DTM. Os doentes foram divididos aleatoriamente em dois grupos de igual número de participantes. O primeiro grupo foi tratado com injeção directa e cada articulação recebeu 2 ml de uma mistura de ozônio e água (a concentração de gás ozônio foi de $10\mu\text{g/ml}$) no espaço articular. As injeções foram repetidas duas vezes por semana durante 3 semanas. O segundo grupo recebeu anti-inflamatórios não esteróides e

relaxantes musculares. Os sinais e os sintomas clínicos antes e após o tratamento foram avaliados com base no índice de disfunção clínica. Os resultados mostraram que 87% dos pacientes que receberam injeção de gás ozônio no espaço articular superior (26 pacientes) foram completamente recuperados.

Num outro estudo clínico, Hammuda et al. em 2013 empregou ozônio na artrocentese da articulação temporomandibular, para tal o estudo foi realizado em 30 pacientes que foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo foi submetido à artrocentese com solução salina, enquanto que no segundo grupo a artrocentese foi realizada com água ozonizada. Os doentes foram avaliados no antes, e no pós-operatório, após o 1º mês, 6 meses e ao fim de 1 ano. No final concluíram que, embora tenha sido observada uma diminuição significativa do nível de dor em ambos os grupos, esta foi no entanto mais significativa no segundo grupo relativamente à abertura máxima da boca. Em ambos os grupos todos apresentaram melhorias e o aumento significativo foi encontrado no grupo II após o 1º mês, 6 meses e 1 ano de pós-operatório.

Com o objetivo de comparar e avaliar o efeito do gás ozônio e da água ozonizada após artrocentese no tratamento do desarranjo interno da articulação temporomandibular, Bakry (2022) avaliou, num estudo clínico randomizado e controlado com 28 pacientes que sofreriam de desarranjo interno da ATM (deslocamento anterior do disco com redução). Os pacientes foram divididos aleatoriamente em 2 grupos, cada grupo composto por 14 pacientes, e as avaliações foram feitas durante 12 meses de acompanhamento. O grupo A (grupo ozônio) recebeu injeção de gás ozônio após artrocentese com solução de Ringer, o grupo B (grupo água ozonizada) recebeu artrocentese com água ozonizada após artrocentese com solução de Ringer. Ao comparar os dois grupos, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo A e o grupo B no que diz respeito às mudanças na medição da dor na escala visual analógica (VAS) do pré-operatório e do pós-operatório (valor $P = 0,086$). No entanto houve diferenças estatisticamente significativas entre o grupo A e o grupo B em relação às mudanças na abertura máxima indolor desde o pré-operatório até o pós-operatório (valor $P = 0,002$). O uso da injeção de gás ozônio após artrocentese para pacientes com dor de desarranjo interno da ATM é bem-sucedido na melhoria da função da ATM e auxilia na redução da dor e auxilia na melhor abertura oral por ser um procedimento simples, seguro, eficaz, minimamente invasivo e com baixo risco de infecção.

As Disfunções da Articulação Temporomandibular, com trismo, espasmo, mioartropatia apresentaram resultados positivos com injeção de gás ozônio no espaço articular (Sen & Sen, 2020).

5- CONCLUSÃO

O ozônio evoluiu com sucesso no tratamento oral e odontológico. A terapia com ozônio é o método de tratamento mais minimamente invasivo, sem desconforto ou dor. Também minimiza a ansiedade e o nível de stress do paciente, pois reduz a duração do tratamento.

O papel benéfico do ozônio no tratamento de diferentes condições orais e dentárias ainda é limitado.

Estudos de acompanhamento devem ser realizados para observar o seu resultado em vários planos de tratamento em medicina dentária. Os resultados gerais mostram que a terapia com ozônio é uma forma eficaz de tratar a dor causada pela DTM e é mais segura e mais eficaz do que a terapia medicamentosa.

O ozônio apesar de ser tóxico para os seres vivos apresenta grande utilidade em diversos tratamentos, em muitas áreas da medicina e da medicina dentária, porém muitas áreas de utilização carecem de mais estudos para se comprovar a sua real eficácia, assim como os efeitos colaterais.

6- BIBLIOGRAFIA

- Abinaya, K., Muthu Kumar, B., & Ahila, S. (2018). Evaluation of surface quality of silicone impression materials after disinfection with ozone water: An in vitro Study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 9(1), 60–64. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_747_17
- Ajeti, N., Pustina-Krasniqi, T., Apostolska, S., & Xhajanka, E. (2018). The effect of gaseous ozone in infected root canal. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(2), 389–396. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.102>
- Alberto Alexandre, E. B., & Andrea Alexandre, E. I. (2015). Disc Herniation and Knee Arthritis as Chronic Oxidative Stress Diseases: The Therapeutic Role of Oxygen Ozone Therapy. *Journal of Arthritis*, 04(03). <https://doi.org/10.4172/2167-7921.1000161>
- Almaz, M. E., & Sönmez, I. Ş. (2015). Ozone therapy in the management and prevention of caries. *Journal of the Formosan Medical Association*, 114(1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2013.06.020>
- Alomar, X., Medrano, J., Cabratosa, J., Clavero, J. A., Lorente, M., Serra, I., Monill, J. M., & Salvador, A. (2007). Anatomy of the Temporomandibular Joint. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI*, 28(3), 170–183. <https://doi.org/10.1053/j.sult.2007.02.002>
- Anumula, L., Suneel Kumar, K. v., Murali Krishna, C. H. N. V., & Sree Lakshmi, K. (2017). Antibacterial activity of freshly prepared ozonated water and chlorhexidine on Mutans Streptococcus when used as an oral rinse – a randomised clinical study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(7), ZC05–ZC08. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/26708.10129>

- Azarpazhooh, A., & Limeback, H. (2008). The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. In *Journal of Dentistry* (Vol. 36, Issue 2, pp. 104–116). <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2007.11.008>
- Bakry, S. (2022). Comparative evaluation of ozone gas and ozonated water after arthrocentesis in management of temporo mandibular joint internal derangement: a clinical randomized controlled study. *Egyptian Dental Journal*, 68(2), 1339–1347. <https://doi.org/10.21608/edj.2022.111917.1916>
- Baysan A., & Lynch E. (2005). The Use of Ozone in Dentistry and Medicine. *Treatment Advances and Primary Dental Care*, 12(2), 47–52.
- Bocci, V. (2006). Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 216(3), 493–504. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2006.06.009>
- Bocci, V., Valacchi, C. G., Corradeschi, F., & Fanetti, G. (1998). *Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production.*
- Buckley, R. D., Hackney, J. D., Clark, K., & Posin, C. (1975). Ozone and human blood. *Archives of Environmental Health*, 30(1), 40–43. <https://doi.org/10.1080/00039896.1975.10666631>
- Camacho-Alonso, F., Salmerón-Lozano, P., & Martínez-Beneyto, Y. (2017). Effects of photodynamic therapy, 2 % chlorhexidine, triantibiotic mixture, propolis and ozone on root canals experimentally infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Odontology*, 105(3), 338–346. <https://doi.org/10.1007/s10266-016-0271-4>
- Celakil, T., Muric, A., Gökcen Roehlig, B., & Evlioglu, G. (2019). Management of pain in TMD patients: Bio-oxidative ozone therapy versus occlusal splints. *Cranio - Journal of Craniomandibular Practice*, 37(2), 85–93. <https://doi.org/10.1080/08869634.2017.1389506>
- Chisnoiu, A. M., Picos, A. M., Popa, S., Chisnoiu, P. D., Lascu, L., Picos, A., & Chisnoiu, R. (2015). Factors involved in the etiology of temporomandibular disorders - a

- literature review. In *Clujul Medical* (Vol. 88, Issue 4, pp. 473–478). Universitatea de Medicina si Farmacie Iuliu Hatieganu. <https://doi.org/10.15386/cjmed-485>
- Cisterna, B., Costanzo, M., Nodari, A., Galiè, M., Zanzoni, S., Bernardi, P., Covi, V., Tabaracci, G., & Malatesta, M. (2020). Ozone activates the NRF2 pathway and improves preservation of explanted adipose tissue in vitro. *Antioxidants*, 9(10), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antiox9100989>
- Daif, E. T. (2012). Role of intra-articular ozone gas injection in the management of internal derangement of the temporomandibular joint. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 113(6). <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.08.006>
- Dolan, M., Dolan, D. Ö., Düger, C., Kol, I. Ö., Akpınar, A., Mutaf, B., & Akar, T. (2014). Effects of high-frequency bio-oxidative ozone therapy in temporomandibular disorder-related pain. *Medical Principles and Practice*, 23(6), 507–510. <https://doi.org/10.1159/000365355>
- Dołan, M., Dołan, D. Ö., Düger, C., Kol, I. Ö., Akpınar, A., Mutaf, B., & Akar, T. (2014). Effects of high-frequency bio-oxidative ozone therapy in temporomandibular disorder-related pain. *Medical Principles and Practice*, 23(6), 507–510. <https://doi.org/10.1159/000365355>
- Garg, R. (2009). *Ozone: A new face of dentistry*. <https://www.researchgate.net/publication/215062909>
- Haghighat, S., & Oshaghi, S. (2020). Effectiveness of ozone injection therapy in temporomandibular disorders. *Advanced Biomedical Research*, 9(1), 73. https://doi.org/10.4103/abr.abr_105_20
- Hammuda, A., El-Sharrawy, E. A., Said Hamed, M., Abdelhaleim Elsharrawy, E., Ahmed Elsholkamy, M., & Iskandar, A. (2013). Use of Ozone in Temporomandibular Joint Arthrocentesis. In *Clinical Study. Journal of American Science* (Vol. 9, Issue 7). <http://www.jofamericanscience.org>508<http://www.jofamericanscience.org>.63
- Hayakumo, S., Arakawa, S., Mano, Y., & Izumi, Y. (2013). Clinical and microbiological effects of ozone nano-bubble water irrigation as an adjunct to mechanical

- subgingival debridement in periodontitis patients in a randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 17(2), 379–388. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0711-7>
- Holmes, J. (2004). Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerontology*, 20(2), 106–114.
- Krunić, J., Stojanović, N., Đukić, L., Roganović, J., Popović, B., Simić, I., & Stojić, D. (2019). Clinical antibacterial effectiveness and biocompatibility of gaseous ozone after incomplete caries removal. *Clinical Oral Investigations*, 23(2), 785–792. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2495-x>
- Kshitish, D., & Laxman, V. K. (2010). The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: A clinical and microbiologic study. *Indian Journal of Dental Research*, 21(3), 341–348. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.70796>
- Kumar, A., Bhagawati, S., Tyagi, P., & Kumar, P. (2014). Current interpretations and scientific rationale of the ozone usage in dentistry: A systematic review of literature. *European Journal of General Dentistry*, 3(03), 175–180. <https://doi.org/10.4103/2278-9626.141658>
- Larini, A., & Bocci, V. (2005). Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. *Toxicology in Vitro*, 19(1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2004.06.007>
- Lomas, J., Taylan, G., Christopher, J., & Duncan, C. (2018). Temporomandibular dysfunction. *AJGP*, 47(4), 212–215. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.94463>
- Lubojanski, A., Dobrzynski, M., Nowak, N., Rewak-Soroczynska, J., Szt Tyler, K., Zakrzewski, W., Dobrzynski, W., Szymonowicz, M., Rybak, Z., Wiglusz, K., & Wiglusz, R. J. (2021). Application of selected nanomaterials and ozone in modern clinical dentistry. In *Nanomaterials* (Vol. 11, Issue 2, pp. 1–30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nano11020259>
- Manfredini, D., Lombardo, L., & Siciliani, G. (2017). Dental occlusion and temporomandibular disorders. *Evidence-Based Dentistry*, 18(3), 86–87. <https://doi.org/10.1111/joor.12531>

- Murphy, M. K., Macbarb, R. F., Wong, M. E., & Athanasiou, K. A. (2013). Temporomandibular Joint Disorders: A Review of Etiology, Clinical Management, and Tissue Engineering Strategies HHS Public Access. In *Int J Oral Maxillofac Implants* (Vol. 28, Issue 6).
- Özalp, Ö., Yildirimyan, N., Sindel, A., Altay, M. A., & Kişnişci, R. Ş. (2019). Evaluation of the short-term efficacy of transdermal ozone therapy in turkish patients with internal derangement of the temporomandibular joint. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria e Clinica Integrada*, 19(1). <https://doi.org/10.4034/PBOCI.2019.191.44>
- Pietrocola, G., Ceci, M., Preda, F., Poggio, C., & Colombo, M. (2018). Evaluation of the antibacterial activity of a new ozonized olive oil against oral and periodontal pathogens. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 0–0. <https://doi.org/10.4317/jced.54929>
- Reyes, J. M. V., & Castillo, M. G. del. (2021). Ozonotherapy as an Alternative to Pain Treatment in Temporomandibular Disorders. *Acta Scientific Neurology*, 4(3), 46–52.
- Rowen, R. (2018). Ozone therapy as a primary and sole treatment for acute bacterial infection: Case report. *Medical Gas Research*, 8(3), 121–124. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.241078>
- Sancakli, H. S., Siso, S. H., Yildiz, S. O., & Gökçe, Y. B. (2018). Antibacterial effect of surface pretreatment techniques against streptococcus mutans. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 21(2), 170–175. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_98_16
- Sen, S., & Sen, S. (2020). Ozone therapy a new vista in dentistry: Integrated review. In *Medical Gas Research* (Vol. 10, Issue 4, pp. 189–192). Wolters Kluwer Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.304226>
- Seyam, O., Smith, N. L., Reid, I., Gandhi, J., Jiang, W., & Khan, S. A. (2018). Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. In *Medical Gas Research* (Vol. 8, Issue 3, pp. 103–110). Wolters Kluwer Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.241075>

- Sharma, S., Pal, U., Gupta, D., & Jurel, S. (2011). Etiological factors of temporomandibular joint disorders. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 2(2), 116. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.94463>
- Sies, H. (2021). Oxidative eustress: On constant alert for redox homeostasis. In *Redox Biology* (Vol. 41). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101867>
- Singh, V., Sudhakar, K. N. V., Mallela, K. K., & Mohanty, R. (2017). A review of temporomandibular joint-related papers published between 2014-2015. In *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* (Vol. 43, Issue 6, pp. 368–372). Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2017.43.6.368>
- Srikanth, A., Sathish, M., & Harsha, A. V. S. (2013). Application of ozone in the treatment of periodontal disease. In *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* (Vol. 5, Issue SUPPL.1). <https://doi.org/10.4103/0975-7406.113304>
- Suh, Y., Patel, S., Kaitlyn, R., Gandhi, J., Joshi, G., Smith, N., & Khan, S. (2019). Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine. In *Medical Gas Research* (Vol. 9, Issue 3, pp. 163–167). Wolters Kluwer Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.266997>
- Travagli, V., Zanardi, I., Bernini, P., Nepi, S., Tenori, L., & Bocci, V. (2010). Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood. *International Journal of Toxicology*, 29(2), 165–174. <https://doi.org/10.1177/1091581809360069>
- Tricarico, G., Isakovic, J., Song, M. S., Rustichelli, F., Travagli, V., & Mitrecic, D. (2020). Ozone influences migration and proliferation of neural stem cells in vitro. *Neuroscience Letters*, 739. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135390>
- Tricarico, G., & Travagli, V. (2021). The relationship between ozone and human blood in the course of a well-controlled, mild, and transitory oxidative eustress. *Antioxidants*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/antiox10121946>
- Tuncay, O., Dinçer, A. N., Kuştarci, A., Er, O., Dinç, G., & Demirbuga, S. (2015). Effects of ozone and photo-activated disinfection against *Enterococcus faecalis* biofilms in

- vitro. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 18(6), 814–818.
<https://doi.org/10.4103/1119-3077.163289>
- Türkyılmaz, G. G., Bakır, M., & Atıcı, Ş. R. (2020). The effect of intra-articular ozone injection on pain and physical function in knee osteoarthritis: A prospective study. *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*, 6(60), 68–72.
<https://doi.org/10.23950/jcmk/9265>
- Verma, S. K., Maheshwari, S., & Chaudhari, P. K. (2012). Etiological factors of temporomandibular joint disorders. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 3(2), 238. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.111396>
- Wang, X., Wang, G., Liu, C., & Cai, D. (2018). Effectiveness of intra-articular ozone injections on outcomes of post-arthroscopic surgery for knee osteoarthritis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15(6), 5323–5329.
<https://doi.org/10.3892/etm.2018.6101>
- Zhao, Z., Ozcan, E. E., Vanarsdale, E., Li, J., Kim, E., Sandler, A. D., Kelly, D. L., Bentley, W. E., & Payne, G. F. (2021). Mediated Electrochemical Probing: A Systems-Level Tool for Redox Biology. In *ACS Chemical Biology* (Vol. 16, Issue 7, pp. 1099–1110). American Chemical Society.
<https://doi.org/10.1021/acscchembio.1c00267>