

VINÍCIUS MAXIMIANO SILVA

Ensaio biológico, biomecânico e clínico dos lasers e agentes com fosfato de cálcio no protocolo dessensibilizante para a hipersensibilidade dentinária

São Paulo

2022

VINÍCIUS MAXIMIANO SILVA

Ensaio biológico, biomecânico e clínico dos lasers e agentes com fosfato de cálcio no protocolo dessensibilizante para a hipersensibilidade dentinária

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia para obter o título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Dentística

Orientador: Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha

São Paulo

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Silva, Vinícius Maximiano.

Ensaio biológico, biomecânico e clínico dos lasers e agentes com fosfato de cálcio no protocolo dessensibilizante para a hipersensibilidade dentinária / Vinícius Maximiano Silva; orientadora Ana Cecília Corrêa Aranha. -- São Paulo, 2022.

132 p. : fig., tab., graf. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de concentração: Dentística. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida.

1. Lasers. 2. Fotobiomodulação. 3. Fosfato de cálcio. 4. Sensibilidade da dentina. 5. Permeabilidade dentária. I. Aranha, Ana Cecília Corrêa. II. Título.

Fábio Jastwebski – Bibliotecário - CRB8/5280

Silva VM. Ensaio biológico, biomecânico e clínico dos lasers e agentes com fosfato de cálcio no protocolo dessensibilizante para a hipersensibilidade dentinária. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: 01/03/2023

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). Karen Muller Ramalho

Instituição: UNIB _____ Julgamento: Aprovado _____

Prof(a). Dr(a). Carla Renata Sipert

Instituição: FOUSP _____ Julgamento: Aprovado _____

Prof(a). Dr(a). Márcia Martins Marques

Instituição: UNIB _____ Julgamento: Aprovado _____

Para meus amados pais, conseguimos mais uma vez.

Esta vitória é nossa!

AGRADECIMENTOS

Graças dou ao meu Deus pela vida, pelo amor e por tão de perto zelar por mim.
Sem Ele eu jamais conseguiria. Toda glória seja dada a Ele.

Aos meu queridos pais, pelo cuidado e incentivo durante toda minha caminhada.
Nem sempre foi fácil, mas com vocês ao meu lado tudo foi possível. Amo vocês.

Ao meu irmão, Victor, minha cunhada Mariana e meu sobrinho Arthur. A torcida e
apoio de vocês, minha família, sempre foram muito importantes.

Aos meus amados avós, João, Sebastiana, Benedito e Margarida. Sempre busco
seguir seus exemplos de honestidade e trabalho duro. Muito obrigado.

Às minhas amigas, Mirian e Camila, que sempre tão de perto me ajudaram nessa
caminhada. Sorrimos, choramos e aprendemos juntos. Contem sempre comigo.

Às minhas amigas de longa data, Ellen, Carol, Vânia e Raquel, que sempre
estiveram ao meu lado, ainda que de longe, torcendo sempre. Vocês são especiais.

À minha amiga e orientadora, Prof.^a Dr.^a Ana Cecília Correa Aranha, pelas
oportunidades, conselhos e parceria. Sempre serei grato pelos seus ensinamentos e
dedicação, que me ajudaram a crescer. Novamente, espero ter correspondido à
altura. Muito sucesso em sua caminhada.

Ao Prof. Dr. Praveen R. Arany, que me recebeu de forma tão calorosa em seu
laboratório durante o intercâmbio. Sua gentileza e excelência são marcas das quais
sempre me lembrarei. Agradeço pela grande oportunidade.

A todos os amigos que fiz na State University of New York at Buffalo e no
departamento de Oral Biology da School of Dental Medicine, em especial, Phil,
Shaina, Victória e Pedro. Agradeço por toda ajuda e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Claudio Mendes Pannuti, por todo o esforço em nos ajudar com os trabalhos. Aprendi muito com nossa parceria, terei sempre uma grande admiração por você.

À Prof.^a Dr.^a Taís Scaramucci que sempre se mostrou disposta a ajudar com muito afinho e dedicação. Aprendi muito com você, muito obrigado.

À Prof.^a Dr.^a Denise Maria Zezell pela disposição em ajudar com parcerias de pesquisa e disponibilização de recursos para a condução das pesquisas. Deixo aqui meus sinceros agradecimentos.

À Prof.^a Márcia Martins Marques que sempre me acolheu tão bem e com quem pude aprender muito. Seu trabalho duro e foco são inspirações para mim. É uma satisfação ter sua participação também neste momento.

À Prof.^a Dr.^a Carla Sipert que, desde a minha graduação, se mostrou atenciosa e muito competente. Nunca esquecerei sua generosidade, entusiasmo e paciência em me ensinar. Agradeço de coração.

À Prof.^a Dr.^a Karen Muller Ramalho por contribuir com este momento tão especial. Suas valiosas sugestões engrandecem este trabalho, muito obrigado.

À minha querida professora de inglês, Silvia Regina, que me preparou de forma exemplar para que eu pudesse viajar e aproveitar esta grande oportunidade. Sua torcida constante e carinho fizeram toda a diferença, muito obrigado.

A todos os irmãos de nossa igreja pelas constantes orações e palavras de incentivo. Deus continue os abençoando.

A todos os colegas do GPEC-HD pela parceria nos trabalhos, pela presença diária e trocas de experiências. Desejo sorte e sucesso a todos.

A todos os alunos e funcionários do Departamento de Dentística da FOUSP, LELO e setor de Pós-graduação por toda ajuda.

A todos os professores do Departamento de Dentística da FOU SP pelos ensinamentos e conselhos.

A todos os funcionários da biblioteca da FOU SP, em especial à Glauci e Vânia, pelas correções e ajuda neste trabalho.

A todos os pacientes e demais pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À direção da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Giulio Gavini e do Vice-Diretor Prof. Dr. Giuseppe Alexandre Romito

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOU SP, na pessoa do Presidente Prof. Dr. Fernando Neves Nogueira

À chefe do Departamento de Dentística da FOU SP, na pessoa da Prof.^a Dr.^a Adriana Bona Matos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado relacionada ao atual trabalho (Processo 2016/17143-7) pelo apoio financeiro

À CAPES pela bolsa de doutorado (Processo 88882.376628/2019-01) e pela bolsa de doutorado sanduíche (Processo 88887.570704/2020-00)

*“Ensinaste-me, ó Deus, desde a minha mocidade; e até aqui tenho anunciado as
tuas maravilhas”.*

Salmos 71.17

RESUMO

Silva VM. Ensaio biológico, biomecânico e clínico dos lasers e agentes com fosfato de cálcio no protocolo dessensibilizante para a hipersensibilidade dentinária [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2022. Versão Corrigida.

A hipersensibilidade dentinária é uma condição dolorosa com alta prevalência entre diferentes populações. Dessa forma, diferentes estratégias para dessensibilização tem sido desenvolvidas. A utilização dos lasers e agentes com fosfato de cálcio tem demonstrado resultados positivos na literatura, principalmente quando associados a um tratamento completo envolvendo diagnóstico correto, prevenção da progressão dos desgastes dentais/recessão gengival e alteração de hábitos e estilo de vida. A eficácia desses agentes e seus mecanismos de ação sobre os tecidos biológicos ainda necessita de maiores informações. Assim, o objetivo desta tese foi investigar como o laser de 1064 nm e os agentes com fosfosilicato de cálcio agem sobre os tecidos biológicos e a duração destes efeitos. Este trabalho é um compilado de três estudos: *in vitro*, cultivo celular e ensaio biomecânico; e *in vivo*, estudo clínico randomizado duplo-cego. O ensaio biomecânico demonstrou a efetividade dos tratamentos na redução da permeabilidade dentinária e obliteração dos túbulos dentinários. Esses resultados foram também investigados clinicamente, com a avaliação da efetividade dos tratamentos na redução da dor de forma imediata e em longo prazo, por 6 meses. Os resultados para o grupo laser, com tendência a manter os valores de dor mais baixos, nortearam o posterior estudo com cultivo celular, que comparou diferentes protocolos de irradiação sobre células pré-odontoblastos. Neste estudo, foi demonstrado que o laser de 1064 nm possui efeitos biomodulatórios sobre o tecido pulpar, induzindo a proliferação e a diferenciação celular.

Palavras-chave: Lasers. Fotobiomodulação. Fosfato de cálcio. Hipersensibilidade dentinária. Permeabilidade dentinária.

ABSTRACT

Silva VM. Biological, biomechanical and clinical trial of lasers and agents with calcium phosphate in the desensitizing protocol for dentin hypersensitivity [thesis]. São Paulo: University of São Paulo, School of Dentistry; 2022. Corrected Version.

Dentin hypersensitivity (DH) is a painful condition with high prevalence among different populations and different desensitization strategies have been developed. The use of lasers and agents with calcium phosphate has shown positive results in the literature, especially when associated with a complete treatment involving correct diagnosis, prevention of the progression of tooth wear/gingival recession and changes in habits and lifestyle. The clinical efficacy of these agents and their mechanisms of action on biological tissues still lacks further information. The aim of this thesis was to investigate how the 1064 nm laser and calcium phosphosilicate agents act on biological tissues and the duration of these effects. This work is a compilation of three studies: in vitro, cell culture and biomechanical assay, and in vivo, double-blind randomized clinical study. The biomechanical test demonstrated the effectiveness of the treatments in reducing dentin permeability and obliterating dentinal tubules. These results were also clinically investigated, proving the effectiveness of the treatments in reducing pain immediately and in the long term, for 6 months. The results for the laser group, with a tendency to maintain lower pain values, guided the subsequent study with cell culture, which compared different irradiation protocols on pre-odontoblast cells. In this study, it was demonstrated that the 1064 nm laser has biomodulatory effects on the pulp tissue, inducing cell proliferation and differentiation.

Keywords: Lasers. Photobiomodulation. Calcium phosphate. Dentin hypersensitivity. Dentin permeability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 3.1 - Grupos experimentais e parâmetros de irradiação	40
Figura 3.1 - Fórmula para dosimetria	41
Tabela 3.2 - Ajuste da dose (Einstein) para os grupos G5 e G6.....	41
Figura 3.2 - Dispositivo 3D	43
Tabela 3.3 - Parâmetros de irradiação e atenuação da dose	46
Gráfico 3.1 - Valores de fluorescência para ALP – diferenciação celular	47
Figura 3.3 - Imagens de imunofluorescência, marcação para pSmad 2/3	48
Gráfico 3.2 - Valores de fluorescência para AlamarBlue – proliferação celular	49
Quadro 4.1 - Tratamentos dessensibilizantes de consultório	68
Figura 4.1 - Médias (desvios-padrão) de %Lp para todos os grupos nos dois tempos experimentais	71
Figura 4.2 - Médias (desvios-padrão) de TDA para todos grupos em todos os tempos experimentais	72
Figura 4.3 - Micrografias representativas dos tratamentos para cada grupo e tempo experimenta	73
Figura 5.1 - Flowchart do estudo	89
Tabela 5.1 - Dados demográficos e desfechos clínicos em baseline.....	92
Tabela 5.2 - Alívio de dor – Estímulo evaporativo	93

Tabela 5.3 - Alívio de dor – Estímulo tátil	93
Tabela 5.4 - Avaliação de dor – Estímulo evaporativo, valores absolutos	94
Tabela 5.5 - Avaliação de dor – Estímulo tátil, valores absolutos	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ca	Cálcio
CSP	<i>Calcium Sodium Phosphosilicate</i>
EDTA	<i>ethylene diamine tetra-acetic acid</i>
EUA	Estados Unidos da América
EVA	Escala Visual Analógica de Dor
FCS	Fosfosilicato de cálcio e sódio
HCA	Hidroxicarbonato-apatita
HD	Hipersensibilidade dentinária
HDC	Hipersensibilidade dentinária cervical
LCNC	Lesão cervical não-cariosa
LNC	Lesão não-cariosa
MEV	microscopia eletrônica de varredura
Na	Sódio
Nd	Neodímio
OH	Hidroxila
PBM	<i>photobiomodulation</i> (fotobiomodulação)
RG	Recessão gengival
Si	Silício
TDA	túbulos dentinários abertos
UTN	Universal Trial Number
YAG	Yttrium – Alumminium – Garnet

LISTA DE SÍMBOLOS

nm	Nanômetro(s)
%	Porcentagem
min	Minuto(s)
W	Watt(s)
Hz	Hertz
mJ	Millijoule(s)
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
®	Registrado
%Lp	Permeabilidade dentinária
α	Alfa, nível de significância
mJ	Milijoule(s)
cm	Centímetro
p	Probabilidade do evento
™	Trademark symbol
x	Vezes
mm	Milímetro(s)
N	Newton(s)
pH	Potencial hidrogeniônico
°C	Graus Celsius
seg.	Segundo(s)
rpm	rotações por minuto
g/l	Gramas(s) por litro(s)
ppm	partes por milhão
psi	Pounds per square inch
μ l	microlitros
μ l mim ¹	volume de fluxo
μ m	Micrometro(s)
δ	Delta
mM	milimolar

PREFÁCIO

Esta tese foi dividida em capítulos, compostos pela tradução livre para a língua portuguesa de três artigos científicos:

- I. Maximiano V, Aranha ACC, Arany PR, 1064 nm laser in inducing proliferation and differentiation of pre-odontoblast cells. Em fase de submissão.
- II. Maximiano V, Machado AC, Lopes RM, Rabelo FEM, Garófalo SA, Zezell DM, et al. Association of Nd:YAG laser and calcium-phosphate desensitizing pastes on dentin permeability and tubule occlusion. J Appl Oral Sci [Internet]. 2021 [cited 2022 Oct 11];29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33825753/>
- III. Maximiano V, Yoshida ML, Pannuti CM, Aranha ACC. A double-blind randomized clinical trial of dentin hypersensitivity reduction with Nd:YAG laser and 15% calcium sodium phosphosilicate prophylactic paste over six months. Em fase de submissão.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
2	PROPOSIÇÃO	33
3	CAPÍTULO I	35
4	CAPÍTULO II	61
5	CAPÍTULO III	83
6	DISCUSSÃO	107
7	CONCLUSÕES	111
	REFERÊNCIAS	113
	ANEXOS	119

1 INTRODUÇÃO

Uma das condições bucais mais prevalentes nas populações em geral, que ainda representa um grande desafio para os clínicos, é a hipersensibilidade dentinária (HD) (Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity, 2003). Diversos estudos relatam prevalências altas e diferentes conforme as populações estudadas e, em média, esse valor é de 33,5% (Favaro Zeola et al., 2019). Classicamente, a HD foi descrita como uma dor provocada por um estímulo externo sobre uma região de dentina exposta, e que não pode ser associada com outras doenças ou defeitos dentais (Holland et al., 1997). A HD pode ser provocada por estímulos que causem a movimentação do fluido dentinário, como os osmóticos, térmicos, evaporativos ou táteis (Pashley, 1986). A teoria hidrodinâmica descreve o mecanismo para a origem da dor dentinária, em que a movimentação do fluido dentinário resulta em ativação direta de fibras nociceptivas no tecido pulpar (Braennstroem; Astroem, 1964).

A conclusão direta a partir da teoria hidrodinâmica é que, para evitar a movimentação do fluido dentinário, é necessário ocluir os túbulos. Outra inferência é a de que áreas de dentina expostas na cavidade oral são, conseqüentemente, regiões com HD. De fato, a HD é amplamente correlacionada com as lesões não cariosas e recessões gengivais (DILSIZ et al., 2010; GRIPPO et al., 2004; Lussi; Schaffner, 2000). Entretanto, constatou-se que nem todas as regiões de dentina exposta apresentavam HD e a distinção entre dentina hipersensível e não sensível começou a ser realizada. Análises morfológicas apontam que a dentina hipersensível apresenta uma quantidade maior de túbulos dentinários abertos e com maior diâmetro. Em contrapartida, a dentina não sensível apresenta menor quantidade e densidade de túbulos dentinários, que quase sempre estão cobertos por uma camada de *smear layer* (Rees; Addy, 2002; Yoshiyama et al., 1989). Portanto, a maior permeabilidade da dentina é um fator ligado ao surgimento da HD (Absi et al., 1987).

Parte do tratamento para a HD inclui a dessensibilização dentinária. Para esta etapa, há diversos agentes dessensibilizantes disponíveis no mercado, com diferentes princípios ativos e estratégias de uso. Eles podem ser divididos em dois grupos: os de ação neural e os de ação obliteradora. Apesar da grande variedade de tratamentos,

ainda não existe um protocolo padrão-ouro, bem definido. O agente ideal deveria, entre outras coisas, ser biocompatível, não causar irritações, ser duradouro, de fácil aplicação, com eficácia imediata e consistente (Grossman, 1935). Apesar disso, algumas opções terapêuticas têm demonstrado grande potencial, como é o caso dos lasers e dos produtos à base de fosfato de cálcio (Kimura et al., 2000; Zhu et al., 2015).

Os efeitos dos lasers incluem a ativação de cascatas químicas intracelulares que desencadeiam a analgesia, modulação da inflamação e biomodulação tecidual (fotobiomodulação – PBM), com os lasers de baixa potência, como também efeitos fototérmicos que promovem corte, ablação, coagulação ou *melting*, com os lasers de alta potência (Kimura et al., 2000). Entre os lasers de alta potência, os que estão na faixa de comprimento de onda de 1064 nm, como o laser de Nd:YAG, são os mais utilizados no protocolo dessensibilizante. Estes lasers promovem o derretimento superficial da dentina, reduzindo a quantidade de túbulos abertos e, conseqüentemente, diminuindo a permeabilidade dentinária (Kara; Orbak, 2009). A ideia de que a energia resultante da irradiação da dentina pode ter efeitos de PBM sobre o tecido pulpar é promissora e deve ser investigada. De fato, a literatura sugere que a PBM possa ser utilizada na indução de dentina terciária, porém, mais trabalhos precisam ser realizados para que a evidência seja forte (Ferreira et al., 2006).

A escolha dos parâmetros de irradiação é uma etapa essencial na utilização de qualquer laser, pois definem a segurança e a eficácia do tratamento. Devido à grande variabilidade de protocolos e à falta de padronização destes, a literatura ainda apresenta resultados conflitantes (Machado et al., 2017). Por esse motivo, a padronização da dosimetria se faz necessária para que as evidências da PBM e utilização dos lasers em geral sejam melhor suportadas.

Os agentes à base de fosfato de cálcio também são muito utilizados no tratamento da HD, com resultados promissores (SUGE et al., 2002). Este agente pode ser encontrado em uma grande variedade de produtos, de uso caseiro ou profissional, em diferentes concentrações e formulações. Os agentes com fosfato de cálcio liberam íons que se acumulam sobre a superfície dentinária, formando uma camada cristalina capaz de vedar os túbulos dentinários. Resultados clínicos sugerem que a ação destes agentes na redução da HD é imediata e significativa, embora a duração dos efeitos em longo prazo não seja um consenso na literatura (Berkathullah et al., 2018; Machado et al., 2019).

Neste sentido, os trabalhos apresentados nesta tese foram desenvolvidos com o intuito de investigar os efeitos em longo prazo dos lasers e agentes à base de fosfato de cálcio no tratamento dessensibilizante da HD, identificando a eficácia clínica dessas terapias. Adicionalmente, examinamos como esses tratamentos se comportam frente aos desafios químicos e físicos da cavidade oral e como podem influenciar o tecido pulpar.

2 PROPOSIÇÃO

Esta tese, dividida em 3 capítulos compostos por artigos de publicação, teve como objetivos:

1. Observar os efeitos da irradiação com laser de 1064 nm na indução da proliferação e diferenciação de pré-odontoblastos (MDPC-23).
2. Avaliar *in vitro* a eficácia imediata do laser de Nd:YAG e agentes dessensibilizantes no protocolo dessensibilizante associativo para redução da permeabilidade dentinária e oclusão tubular e após uma ciclagem erosivo-abrasiva.
3. Verificar clinicamente a efetividade do laser de Nd:YAG e pasta profilática contendo 15% de fosfosilicato de cálcio e sódio na diminuição da hipersensibilidade dentinária cervical por um período de 6 meses.

3 CAPÍTULO I

Laser de 1064 nm na indução da proliferação e diferenciação de células pré-odontoblastos

3.1 RESUMO

Objetivos: Com base em um estudo anterior que observou que o laser de diodo de 810 nm induzia a diferenciação de células mesenquimais através da ativação de TGF- β , o presente estudo teve por objetivo avaliar *in vitro* a efetividade do laser de diodo de 1064 nm na proliferação e diferenciação de células pré-odontoblastos MDPC-23.

Metodologia: As irradiações foram realizadas sobre discos de dentina posicionados sobre as culturas celulares, simulando uma câmara pulpar artificial. Os grupos (n = 3) foram divididos conforme os parâmetros de irradiação: G1. controle – sem tratamento; G2. 0,5 W; G3. 0,7 W, G4. 1 W, G5. Fotobiomodulação (PBM) + dentina (12 mW); G6. PBM (12 mW). Os grupos foram avaliados de acordo com a ativação de fosfatase alcalina (ALP) para diferenciação celular e também para proliferação celular pelo ensaio de AlamarBlue, após 48h. Imagens de imunofluorescência foram feitas para análise qualitativa da translocação de pSmad2/3.

Resultados: Este estudo notou a capacidade do laser de diodo de 1064 nm em promover a diferenciação celular nos grupos G2, G4 e G6 ($p < 0,05$). A proliferação celular foi induzida em todos os grupos, mas apenas os grupos G5 e G6 diferiram do controle ($p < 0,05$). A translocação de pSMAD2/3 não foi observada de forma evidente.

Conclusões: O laser de diodo de 1064 nm foi capaz de promover a diferenciação e proliferação de células odontoblásticas, podendo ser considerado um tratamento seguro e efetivo no protocolo dessensibilizante da hipersensibilidade dentinária.

3.2 INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária cervical (HDC) é uma condição sintomática relacionada à exposição de dentina decorrente da perda de esmalte dental e/ou recessão gengival (West et al., 2014). É definida como uma dor curta e aguda, em resposta a estímulos externos como físicos, químicos ou térmicos (Holland et al., 1997; Pashley, 1986). A prevalência da HDC na literatura varia amplamente devido às diferentes populações analisadas e metodologias de pesquisa aplicadas, variando entre 3,8% e 85%, (Chabanski et al., 1996; Rees et al., 2003; Scaramucci et al., 2014). Uma revisão sistemática mais recente apontou uma prevalência média para HDC de 33,5% (Favaro Zeola et al.; 2019), o que coloca a condição como uma das mais frequentes nos consultórios odontológicos.

Muitos fatores têm contribuído para o aumento da HDC nas últimas décadas, como a maior ingestão de alimentos e bebidas ácidas, maior estresse e ansiedade associados ao desenvolvimento de hábitos parafuncionais, como apertamento dental e bruxismo, e alterações no estilo de vida em geral (Jaeggi; 2006; Lussi, 2014). Além disso, as populações tem vivido por mais tempo e com menos perdas dentais ao longo da vida, devido principalmente à maior conservação dos tecidos dentais e à diminuição dos índices de cárie. Dessa forma, os elementos dentais presentes estão mais sujeitos ao desenvolvimento de lesões não cariosas e/ou hipersensibilidade dentinária (West et al., 2014).

A origem da dor da HDC é explicada pela teoria hidrodinâmica, atualmente a mais aceita na literatura. De acordo com esta teoria, a exposição e abertura dos túbulos dentinários permitem a movimentação do fluido dentinário, alterando a direção do fluxo. Assim, estímulos externos sobre a dentina causam a ativação mecânica de fibras nervosas δ -A adjacentes aos odontoblastos da periferia pulpar. e, conseqüentemente, desencadeiam a dor (Braennstroem; Astroem, 1964).

Os tratamentos para HDC podem ser divididos conforme o mecanismo de ação: ação obliteradora ou ação neural (Porto et al., 2009). Os agentes obliteradores foram desenvolvidos após a conclusão natural de que a oclusão tubular impede a movimentação do fluido dentinário e os sintomas relacionados, enquanto os agentes neurais agem diretamente sobre as fibras nervosas da polpa (Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity, 2003;

Markowitz; Kim, 1992). Os tratamentos dessensibilizantes estão disponíveis em diferentes formas de apresentação, como dentifrícios, vernizes, biovidros, lasers de baixa e alta potência, entre outros. Apesar disso, a escolha do plano de tratamento ainda é um desafio para o clínico (Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity, 2003), uma vez que a HDC é de origem multifatorial e, dessa forma, necessita de um tratamento abrangente (Gillam, 2013).

Os lasers já são utilizados em diversos procedimentos odontológicos e tem ganhado espaço como uma alternativa eficaz e conservadora para a dessensibilização de dentes com HDC. Tanto os lasers de baixa potência quanto os de alta potência podem promover o alívio da dor de forma eficiente e duradoura (Kimura et al., 2000; Lopes; Aranha, 2013; Lopes et al., 2017). A dessensibilização gerada pelos lasers depende de diversos parâmetros, como comprimento de onda, tempo de irradiação, potência, irradiância, energia, dose, forma de irradiação, frequência de pulso e quantidade de sessões (Blatz, 2012). Na literatura atual encontra-se uma grande variedade de parâmetros e protocolos de irradiação, o que dificulta a comparação entre resultados (Machado et al., 2017).

Os lasers de baixa potência possuem ação neural e agem diretamente sobre fibras nervosas, impedindo que haja propagação do potencial de membrana e, conseqüentemente, bloqueando a transmissão de estímulos nociceptivos. Além do efeito analgésico, os lasers de baixa potência também possuem ação anti-inflamatória e biomodulatória, efeitos da fotobiomodulação (*photobiomodulation* - PBM) (Karu, 1989; Kimura et al., 2000). Apesar da necessidade de maiores evidências, há indícios que a PBM estimule a produção de dentina terciária pelos odontoblastos, resultando em uma obliteração tubular interna (Ferreira et al., 2006).

Os lasers de alta potência agem principalmente através de efeitos fototérmicos, aumentando a temperatura superficial da área irradiada e causando alterações morfológicas que levam à obliteração dos túbulos dentinários. Entre os lasers de alta potência, o laser de Nd:YAG, com comprimento de onda de 1064 nm, é o mais indicado para o tratamento dessensibilizante da HDC, já que gera o *melting* (derretimento) da dentina, com subsequente recristalização. Nesse processo, de efeito imediato, ocorre o selamento dos túbulos dentinários com uma profundidade aproximada de 4 µm (Aranha et al., 2005; Cunha et al., 2017; Liu et al., 1997).

Outro laser utilizado para dessensibilização é o laser de diodo (Arany et al., 2014). Um estudo anterior demonstrou que a fotobiomodulação com laser de diodo em 810 nm era capaz de ativar o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), que possui um importante papel na modulação da diferenciação celular (Arany et al., 2014; Mullen et al., 2011; Xi et al., 2011). A via de sinalização do TGF- β 1 inclui a fosforilação de transdutores de sinais do tipo SMAD, que quando ativos são translocados para o núcleo celular e realizam a transcrição do gene TGF- β -dependente (Stuelten et al., 2005)

Especula-se também que a irradiação com o comprimento de onda de 1064 nm possa ter um efeito de fotobiomodulação sobre o tecido pulpar, o que contribui para sua eficácia como tratamento dessensibilizante (Kimura et al., 2000). Dessa forma, o laser de diodo de 1064 nm poderia agir obliterando os túbulos dentinários externamente, através do *melting*, e também internamente pela indução da produção de dentina.

Diante do exposto, o presente estudo *in vitro* teve por objetivo investigar os efeitos da irradiação com laser de 1064 nm em cultura celular de pré-odontoblastos (MDPC-23) a partir de protocolos clínicos para o tratamento dessensibilizante da hipersensibilidade dentinária, através da avaliação da proliferação e diferenciação celular.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Cultivo celular

Células pré-odontoblastos MDPC-23 (Mouse Dental Papilla Cell-23) foram cultivadas em DMEM, com glicose 4,5 g/L, L-glutamina 4 mM e piruvato de sódio (HyClone, Cytiva – Marlborough, Massachusetts, EUA) com suplementação de soro fetal bovino 10% (SFB – Atlas Biologicals, Fort Collins, Colorado, EUA) e penicilina-estreptomicina 1 % (Gibco – Waltham, Massachusetts, EUA). As células foram plaqueadas em placas de 24 poços (Corning, Nova Iorque, EUA) com concentração

de 1×10^4 células/poço, divididas entre um dos 6 grupos experimentais ($n = 3$) e armazenadas em estufa à 37°C , com 5% de CO_2 , por 48 horas. Em seguida, as células foram colocadas sob estresse provocado por déficit nutricional. Estudos mostram que há um declínio no crescimento celular quando a suplementação de FBS é diminuída no meio de cultivo (Almeida-Lopes et al., 2001; Azevedo et al., 2006; Pereira et al., 2002). Essa condição emula o cenário clínico do tecido pulpar e permite que os efeitos da PBM sejam mais perceptíveis. Para isso, o meio de cultivo foi substituído para DMEM 1x (Corning), sem piruvato de sódio, com glicose 4,5 g/L, L-glutamina 4 mM e suplementado com apenas 2% de FBS. A simulação do estresse nutricional foi mantida até o fim dos experimentos.

3.3.2 Tratamentos e dosimetria

As células foram divididas em 6 grupos, conforme a tabela 3.1. O laser de diodo com comprimento de onda de 1064 nm (Fotona, Liubliana, Eslovênia) foi utilizado nas irradiações, variando a potência e a dose para cada grupo.

Para a irradiação dos grupos G2, G3 e G4, foi utilizada uma fibra óptica de quartzo de 300 μ , em modo de contato com os discos de dentina, em varredura sobre a superfície dentinária. A potência selecionada no equipamento foi a considerada para estes grupos como a entregue pela fibra aos discos de dentina (*output*). Cada irradiação foi realizada quatro vezes, por 15 segundos e com intervalos de 10 segundos entre cada irradiação, para o alívio térmico (tempo total = 60 segundos). A emissão da radiação para estes grupos foi pulsada, com 10 Hz. Já para os grupos de PBM, G5 e G6, a irradiação foi realizada de forma contínua com uma ponteira de maior calibre, sem contato, com o feixe laser cobrindo todo o poço.

Antes da inserção dos dispositivos 3D nos poços, a potência foi ajustada para os grupos G5 e G6 alterando a distância entre o feixe laser e o fundo dos poços, aferida através de um medidor de potência (*power meter*, ThorLabs, Newton, Nova Jersey, EUA) sob os poços. Para o G5, os discos de dentina foram colocados sobre os poços, enquanto para o G6 os discos e dispositivos 3D não foram colocados (sem atenuação da irradiação). A potência de 1 W para o G4 foi escolhida a partir de resultados positivos na literatura que mostram eficácia clínica e segurança no

protocolo (João-Souza et al., 2015; Lopes; Aranha, 2013; Lopes et al., 2017), sendo que nos grupos G2 e G3 foram definidos menores valores de potência. Para G5 e G6, a fluência foi definida a partir de resultados na literatura mostrando que a irradiação com o laser de 810 nm foi capaz de causar diferenciação, pela indução da atividade da fosfatase alcalina (ALP – *Alkaline Phosphatase*) da linhagem de células MDPC-23 (Arany et al., 2014).

Tabela 3.1 – Grupos experimentais e parâmetros de irradiação

Grupo	Tempo	Disco de dentina	Potência Total (chegada)	Energia Total (Output)
1 – Controle	-	Sim	-	-
2 – 0.5 W	4 x 15 seg (60 seg)	Sim	0.5 W	30 J
3 – 0.7 W	4 x 15 seg (60 seg)	Sim	0.7 W	42 J
4 – 1 W	4 x 15 seg (60 seg)	Sim	1 W	60 J
5 – PBM + Dentina	300 seg	Sim	12 mW	3,6 J
6 - PBM	300 seg	Não	12 mW	3,6 J

Fonte: o autor.

Para a comparação da fluência entre os dois comprimentos de onda foi utilizado o cálculo que leva em consideração a fóton-energia intrínseca de cada comprimento de onda, a partir de princípios da termodinâmica, resultando na denominada fóton-fluência, ou Einstein ($p.J/cm^2$) (Young et al., 2022). A fórmula para equivalência da fluência entre os comprimentos de onda está descrita na figura 3.1. A PBM utilizando o laser de diodo com 810 nm foi utilizada como referência, com irradiância de 10 mW/cm², fluência de 3 J/cm², tempo de 300 segundos e fóton-fluência de 4,5 p.J/cm².

Para atingir a equivalência da fluência utilizando o laser de diodo com 1064 nm, duas alternativas eram possíveis: alterar a potência, deixando o tempo constante, ou o inverso. Neste estudo, alteramos a potência para 12 mW e o tempo permaneceu em 300 segundos, com fóton-fluência final de 4,5 pJ/cm² (Tabela 3.2).

Figura 3.1 – Fórmula para dosimetria

<p>Fluência Convencional (Densidade de Energia) <i>Fórmula: Fluência (J/cm²) = Irradiância (W/cm²) x tempo (s)</i></p> <p>Fóton-Fluência (Einstein) <i>Fórmula: Fóton-Fluência (p.J/cm²) = Irradiância (W/cm²) x tempo (s) x Fóton-Energia (eV)</i></p>

Fonte: o autor.

Tabela 3.2 – Ajuste da dose (Einstein) para os grupos G5 e G6

	nm	Potência (W)	Tempo (seg)	Fluência (J/cm ²)	eV	Einstein (p.J/cm ²)
Referência	810	10	300	3	1,5	4,6
Convencional	1064	10	300	3	1,2	3,5
Ajustado	1064	12	300	3,6	1,2	4,6

Fonte: o autor.

3.3.3 Preparo dos discos de dentina

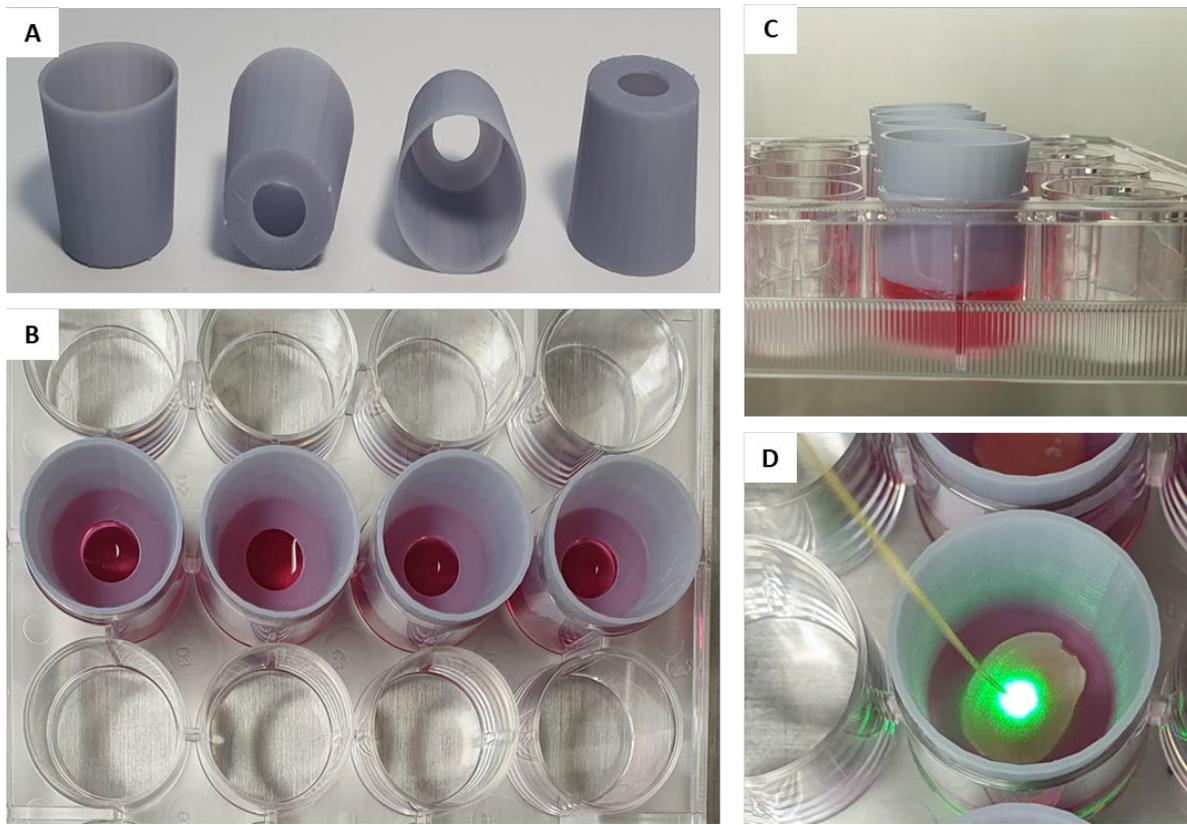
Cinquenta e quatro molares humanos hígidos foram seccionados na junção esmalte-cimento usando uma ponta diamantada (Kerr, Orange, California, EUA). As coroas foram seccionadas transversalmente no sentido ocluso-cervical (Isomet, Baixa rotação, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) para obtenção de discos de 2mm, medidos com

um paquímetro digital. Os discos de dentina foram polidos em lixas abrasivos sob refrigeração com água (lixas de Al_2O_3 com granulações de 320-, 600-, 1200, Buehler) até atingirem a espessura de 1 mm. Os discos foram então lavados com água destilada em uma cuba ultrassônica por 5 minutos e a *smear layer* foi removida pela lavagem dos discos em solução de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) 0.5 M, pH 7,2, por 30 segundos. Em seguida os discos foram esterilizados por irradiação de raios gamma (25 kGy).

3.3.4 Câmara pulpar artificial – Dispositivo 3D

Para nos aproximarmos da condição clínica no tratamento dessensibilizante da hipersensibilidade dentinária com o laser de alta potência, no qual a energia atinge a superfície dentinária e é transmitida até a polpa, uma câmara pulpar artificial foi simulada. O dispositivo consiste em um copo cônico com uma abertura no fundo, encaixado sobre os poços da placa de cultivo. O dispositivo foi impresso em resina (Standard 405 nm – Elegoo, Shenzhen, China), com espessura de 0,6 mm, adaptado de Diniz et. al., 2015 (Diniz et al., 2015). Dentro do dispositivo foram posicionados discos de dentina humana de 1mm de espessura, sobre os quais foram realizadas as irradiações. A face inferior dos discos era colocada em contato com o meio de cultivo, sem contato com o fundo do poço e as células plaqueadas (Figura 3.2). Durante as irradiações, o dispositivo era colocado sobre os poços, sendo retirado logo após o término dos tratamentos. Para garantir a máxima padronização, todos os dispositivos foram deixados pelo mesmo tempo sobre cada poço, e todos os grupos foram tratados em um mesmo intervalo por um único operador. As placas de cultivo foram retiradas da estufa 15 minutos antes da realização dos tratamentos, e foram armazenadas novamente logo após as irradiações.

Figura 3.2 – Dispositivo 3D



A – Dispositivo impresso para apoio do disco de dentina; B – Vista superior dos dispositivos inseridos nos poços. O meio de cultivo ficava em contato com o dispositivo em sua face inferior, sem extravasar para o interior do dispositivo; C – vista lateral dos dispositivos inseridos nos poços; D – irradiação sobre disco de dentina com o laser de 1064 nm, utilizando uma fibra óptica.

Fonte: o autor

3.3.5 Diferenciação celular

Para avaliação da diferenciação celular dos pré-odontoblastos foi utilizado o ensaio de ALP. Quarenta e oito horas após a realização dos tratamentos, o meio de cultivo foi aspirado e as células foram lisadas com a solução *buffer* (Triton 0,1% e Tris HCl 50 nM, pH ajustado em 9,5 – Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA). A quantificação total de proteínas foi mensurada através da técnica de Bradford (BCA – ThermoFisher, Waltham, Massachusetts, EUA). A partir de valores equivalentes de

proteína, o volume das amostras foi ajustado e o ensaio de ALP foi realizado. 100 µl do substrato 4-MUP (Sigma) foi adicionado em cada amostra, incubadas em estufa à 37° C por 30 minutos. Em seguida, valores de fluorescência foram obtidos através de um leitor de placas (SpectraMax i3 Imaging Cytometer SoftMax Pro 7.1, Molecular Devices, California, EUA).

3.3.6 Proliferação celular

A viabilidade e expansão celular foi avaliada 48h após a realização dos tratamentos utilizando o ensaio de AlamarBlue (AlamarBlue® - Bio Rad, Hercules, California, EUA). Este ensaio utiliza o indicador azul Resazurina, não tóxico, que é metabolizado pelas células e sofre uma reação de oxido-redução. Neste processo, o indicador muda de cor e a alteração na fluorescência pode ser lida. Para o ensaio, o meio de cultivo de cada poço foi substituído por uma solução de resazurina 10 % (DMEM + AlamarBlue) e as placas foram armazenadas em estufa à 37° C por 1 hora antes das leituras. A fluorescência foi medida por um leitor de placa (SpectraMax) em 530 nm e 590 nm, e analisada pelo software SoftMax Pro 7.1.

3.3.7 Coloração por imunofluorescência

No presente estudo foi testada a capacidade do laser de diodo em 1064 nm em ativar TGF-β através da análise qualitativa de imagens obtidas por imunofluorescência. Células MDPC-23 foram plaqueadas em slide para microscopia de 8 poços, com volume total de 100 µl e concentração de 1×10^4 células/poço. As células foram deixadas por 24h antes da realização dos tratamentos, para que pudessem aderir ao fundo dos poços. Os grupos (n = 2) foram tratados da seguinte forma: GA. Controle, sem tratamento; GB. 0,5 W de potência; GC. 1 W de potência; GD. PBM, 12 mW por 300 segundos. Para os grupos B e C, um disco de dentina de 1 mm foi colocado sobre os poços durante a irradiação, que foi feita em modo de contato com auxílio de uma fibra óptica de quartzo de 300 µm, em forma de varredura,

em 4 irradiações de 15 segundos cada e com intervalos de 10 segundos entre cada varredura. 30 minutos após as irradiações, os poços foram lavados e incubados com os anticorpos primários P-Smad2/Smad3 (Signaling Technology, Danvers, Massachusetts, EUA) durante 12h, armazenados à 4° C. Em seguida, os poços foram incubados com os anticorpos secundários e contracoloração para actina do citoesqueleto (faloidina) (Invitrogen, Waltham, Massachusetts, EUA) e núcleo celular (DAPI - 4',6-diamidino-2-phenylindole) (Life Technologies, Carlsbad, Califórnia, EUA).

3.3.8 Análise estatística

Os dados dos ensaios de diferenciação celular (ALP) e proliferação celular (AlamarBlue®, Bio-Rad, Hércules, Califórnia, EUA) foram avaliados de acordo com a distribuição dos dados utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Apenas os dados de ALP apresentaram distribuição normal. Para este ensaio, foram consideradas médias \pm desvios-padrões e os grupos foram comparados pelo teste Anova 1 fator seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas. Para os dados de AlamarBlue, foram consideradas as medianas \pm intervalos interquartis, comparados pelo teste de Kruskal-Wallis e testes de Dunn para comparações múltiplas. O nível de significância para todos os testes foi de 5%. Os dados foram analisados com o software Prism (GraphPad Prism, São Diego, Califórnia, EUA).

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Atenuação da dose

Para os grupos em que a irradiação foi realizada diretamente sobre os discos de dentina, a perda de potência e energia, considerando os valores que atingiram as células no fundo dos poços, variou entre 65% e 77,5%. Como esperado, a menor perda de potência e energia aconteceu no grupo G6, com a irradiação feita

diretamente sobre a cultura celular, sendo a perda resultante da interação da radiação com o volume de meio de cultivo presente. A tabela 3.3 mostra a atenuação da dose, que atingiu o fundo dos poços, para cada grupo.

3.4.2 Laser de 1064 nm promoveu diferenciação celular

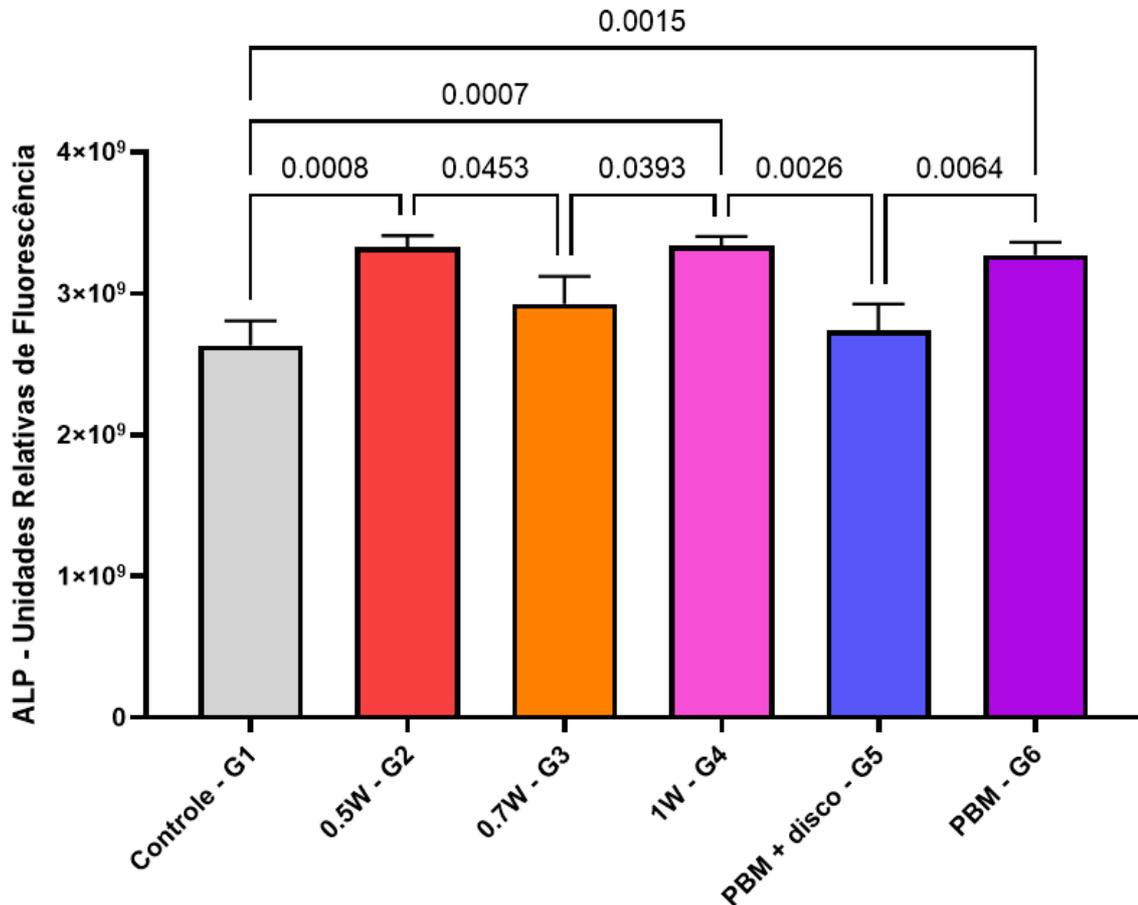
A partir de resultados na literatura que demonstram o potencial do laser de diodo com 810 nm (10 mW/cm², 300 segundos, 3 J/cm²) em induzir a síntese mineral (ARANY et al., 2014), analisamos se o comprimento de onda de 1064 nm teria efeitos semelhantes em células MDPC-23. A PBM promovida pelo laser com 1064 nm resultou em diferenciação celular através da indução da atividade da fosfatase alcalina (ALP) de forma efetiva para os grupos G2 (0,5 W), G4 (1 W) e G6 (PBM), $p < 0,01$, conforme ilustrado no gráfico 3.1. Os grupos G3 (0,7 W) e G5 (PBM + dentina) não diferiram do grupo controle G1 ($p > 0,05$), ao mesmo tempo que diferiram significativamente dos demais grupos tratamento ($p > 0,05$).

Tabela 3.3 – Parâmetros de irradiação e atenuação da dose

Grupo	Potência Total (chegada)	Energia Total (Output)	Potência Total (Residual)	Energia Total (Residual)	Atenuação da dose (%)
1 – Controle	-	-	-	-	-
2 – 0.5 W	0.5 W	30 J	175 mW	10,5 J	65%
3 – 0.7 W	0.7 W	42 J	175 mW	10,5 J	75%
4 – 1 W	1 W	60 J	225 mW	13,5 J	77,5%
5 – PBM + Dentina	12 mW	3,6 J	3 mW	0,9 J	75%
6 - PBM	12 mW	3,6 J	8,75 mW	2,6 J	27%

Fonte: o autor.

Gráfico 3.1 – Valores de fluorescência para ALP – diferenciação celular



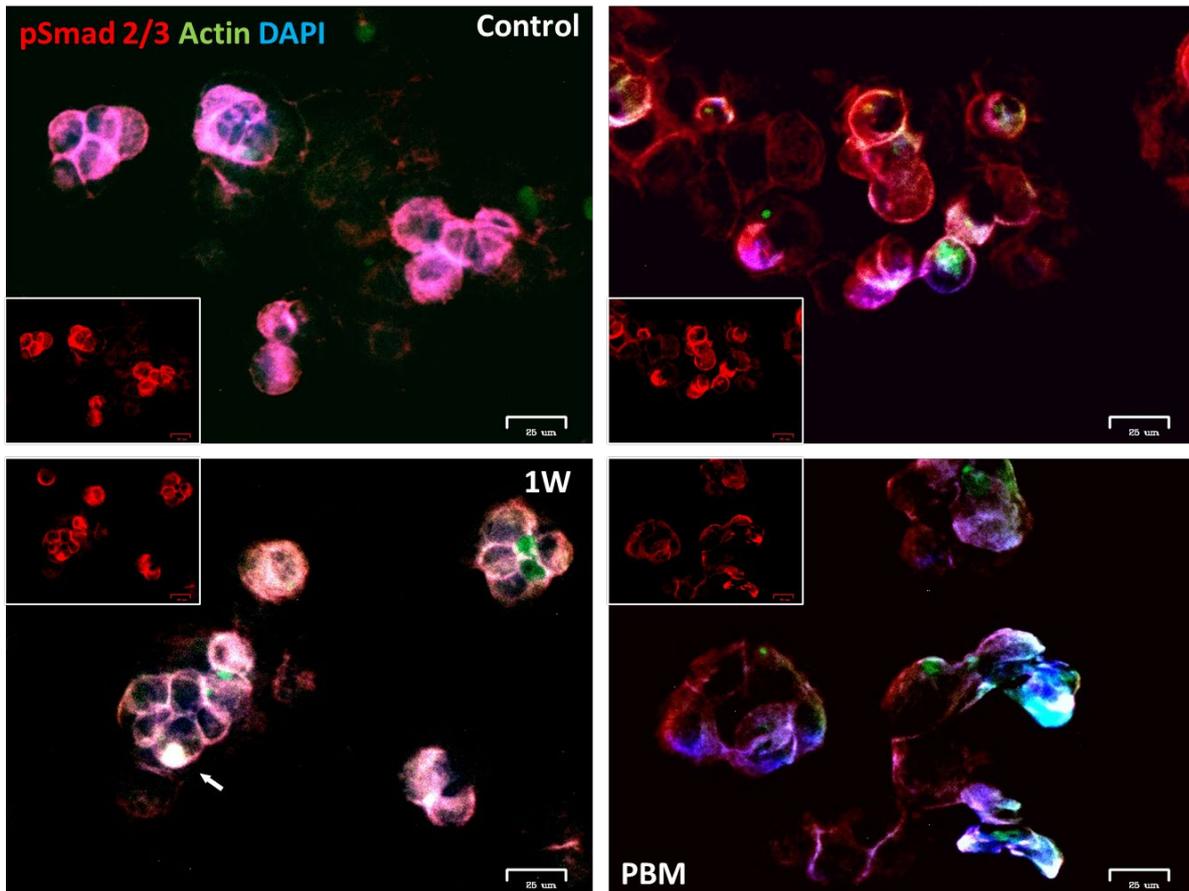
Colchetes evidenciam diferenças significativas entre os grupos e valores de p para cada comparação. Ausência de diferenças significativas não estão descritas. Nível de significância de 5%.

Fonte: o autor.

O papel do TGF- β na modulação da diferenciação celular foi previamente descrito na literatura. Através da coloração com imunofluorescência é possível marcar moléculas e agentes importantes na via de sinalização do, como o pSmad. O potencial da irradiação utilizando o laser de 1064nm em ativar TGF- β foi avaliado através da translocação de pSmad. A figura 3.3 exibe as imagens de imunofluorescência, com sobreposição das imagens em três canais: pSmad 2/3 (vermelho), actina – citoesqueleto (verde - faloidina) e núcleos (azul – DAPI). Os canais com marcação para pSmad foram colocados em menor escala para comparação. Para todos os

grupos, a marcação vermelha se apresenta dispersa pelo citoplasma, com ligeiro acúmulo na região do núcleo celular para o grupo de 1W (seta).

Figura 3.3 – Imagens de imunofluorescência, marcação para pSmad 2/3



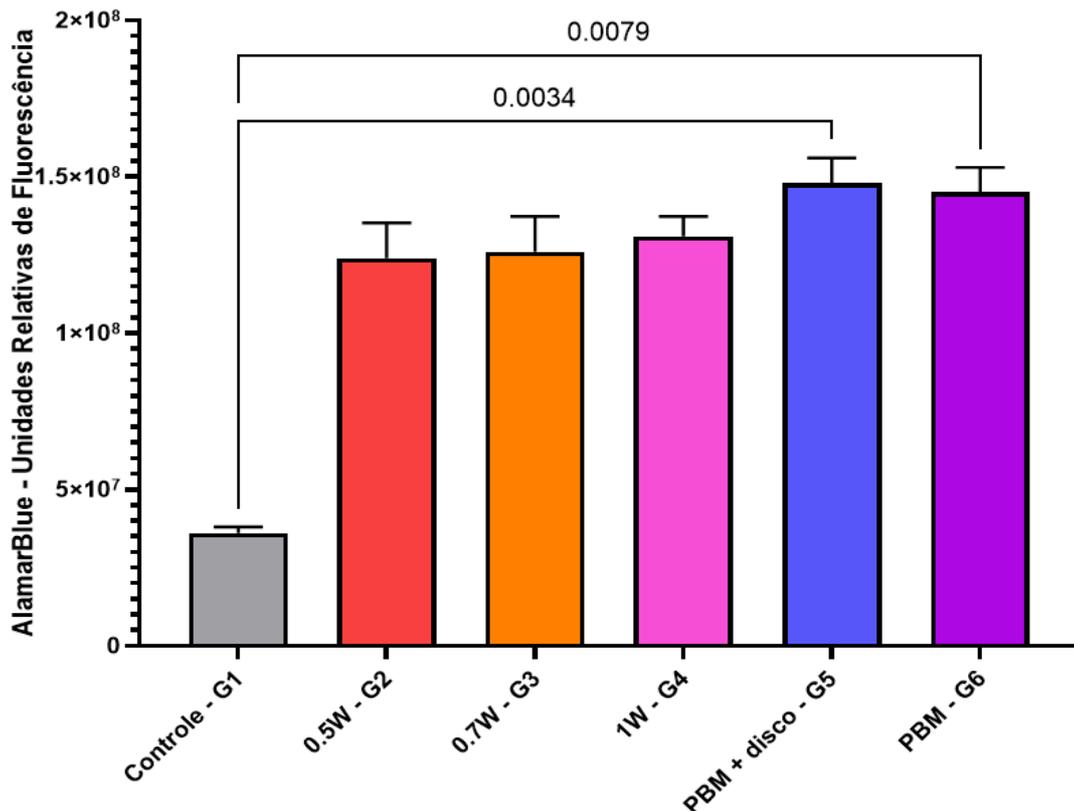
Fonte: o autor.

3.4.3 PBM com laser de 1064 nm induziu a proliferação celular

Apesar de todos os grupos irradiados terem apresentado aumento na proliferação celular, sem diferenças significativas entre eles ($p > 0,05$), apenas os grupos com protocolos de PBM, G5 e G6, diferiram do grupo controle G1 ($p < 0,05$). Menores valores de energia e potência (residuais) induziram de forma mais

pronunciada a expansão celular quando comparados aos protocolos clínicos para gerar *melting* (G2, G3 e G4) (gráfico 3.2).

Gráfico 3.2 - Valores de fluorescência para AlamarBlue – proliferação celular



Colchetes evidenciam diferenças significativas entre os grupos e valores de p para cada comparação. Ausência de diferenças significativas não estão descritas. Nível de significância de 5%.

Fonte: o autor.

3.5 DISCUSSÃO

Uma das estratégias para a redução de dor da hipersensibilidade dentinária inclui a redução da movimentação do fluido dentinário através da oclusão tubular (Braennstroem; Astroem, 1964). A redução dos túbulos dentinários abertos e consequente diminuição da permeabilidade dentinária são objetivos de diversos

agentes dessensibilizantes obliteradores como biovidros, selantes, vernizes e lasers (Porto et al., 2009). Outros agentes, com mecanismo neural, também reduzem os sintomas da HD pela ação direta sobre fibras nervosas pulpares, como o nitrato de potássio e os lasers (fotobiomodulação). Os lasers de alta potência, em especial com o comprimento de onda de 1064 nm, tem sido utilizados no protocolo dessensibilizante da HD de forma eficaz, principalmente pelo seu efeito obliterador (*melting* dentinário) (Lan et al., 2004). Entretanto, por conta da natureza da radiação laser e sua interação com os tecidos biológicos, especula-se que parte da energia possa ser absorvida também no tecido pulpar, desencadeando efeitos tipicamente ligados à PBM, como analgesia, proliferação e diferenciação celular (Whitters et al., 1995). Dessa forma, o laser de 1064 nm poderia promover não apenas a oclusão tubular externamente, mas também induzir a produção de dentina terciária, diminuindo a movimentação do fluido dentinário devido à oclusão tubular interna. A formação de dentina terciária favorece a diminuição da HD pois age como uma barreira mecânica, reduzindo a permeabilidade dentinária, visto que há uma descontinuidade nos túbulos dentinários entre a dentina terciária e as dentinas primária e secundária (Mjör, 2009). O potencial de outros comprimentos de onda em induzirem a produção mineral pelo tecido pulpar tem sido descrito na literatura (Ohbayashi et al., 1999).

A capacidade do laser de diodo de 1064 nm em promover a diferenciação odontoblástica das células MDPC-23 foi avaliada neste estudo através da atividade da fosfatase alcalina (ALP). Esta enzima é um dos primeiros marcadores presentes nos processos de diferenciação celular de odontoblastos e na formação de tecidos mineralizados (Xu et al., 2019). Em nosso estudo, comparamos os protocolos de irradiação clínicos (G2, G3 e G4) com ênfase no *melting* dentinário, com protocolos somente de PBM (G5 e G6). Com relação aos protocolos clínicos, variamos a potência de 0,5 W até 1 W, com conseqüente variação da dose. O uso de doses baixas na PBM tem demonstrado diversos benefícios em vantagens em relação ao uso de doses mais altas, sendo, em geral, a escolha mais frequente para os tratamentos (Young et al., 2022). Foi observado, porém, uma relação dose-resposta não linear entre menor potência/energia e maior atividade da ALP no presente estudo. O grupo G2, com menor dose (30 J) mostrou atividade significativamente maior da ALP em relação ao grupo controle, assim como o grupo com maior dose, G4 (60 J). Surpreendentemente, para o grupo com dose intermediária, G3 (42 J), a atividade da ALP não foi diferente da do grupo controle sem tratamento. Os grupos G5 e G6, com protocolos puramente

de PBM, receberam a mesma dose (*output*), e apenas G6 demonstrou maior atividade da ALP em relação ao controle. Quando avaliada exclusivamente a energia que efetivamente atingiu a monocamada de células, após atingir o disco de dentina presente em G5, foi constatado que a dose é menor em G5 do que em G6. Essa diferença indica que doses muito baixas podem não induzir a diferenciação celular, que necessita de uma energia mínima para que ocorra. Estes achados demonstram a complexidade da relação dose-resposta da PBM e sugerem outros mecanismos envolvidos nesse processo que necessitam maiores investigações.

O laser de diodo de 810 nm é amplamente utilizado no campo da PBM, e seu potencial em promover a diferenciação de células mesenquimais foi explorado na literatura. Lasers no comprimento de onda do infravermelho próximo, como o laser de 810 nm, podem ativar TGF- β através de uma via redox (Arany et al., 2014). A PBM pode induzir a efeitos estimulatórios ou inibitórios de acordo com a dose utilizada, conforme a “Lei de Arndt-Schulz”. Baixas doses tendem a estimular o metabolismo celular e podem ser mais proeminentes conforme o estímulo é aumentado, até um certo limite. Caso a dose continue a ser aumentada, a estimulação é interrompida e efeitos inibitórios ou potencialmente danosos começam a ocorrer. (Jahangiri-Noudeh et al., 2010; Zein et al., 2018)

A correta interação entre a radiação laser e os tecidos depende de diversos aspectos, como a absorção dos fótons pelos cromóforos, penetração da radiação no tecido, comprimento de onda e os parâmetros da irradiação (Karu, 1999; Lima et al., 2020). Doses ideais em PBM são objeto de diversos estudos que, em geral, baseiam-se nas características descritas previamente sem considerarem a energia fótonica, ou fóton-energia. Este conceito já é utilizado na dosimetria para radiações ionizantes de alta precisão e, supostamente, a interação laser-tecido pode seguir padrões semelhantes de transferência de energia conforme princípios termodinâmicos.

Um estudo anterior do grupo de pesquisa demonstrou que utilizar esse modelo para o cálculo da dose, correlacionando a fóton-energia de cada comprimento de onda, permitiu respostas terapêuticas mais previsíveis e comparáveis entre si (Jacques, 1992; Young et al., 2022). Com base nesse princípio, a dose para G5 e G6 foi calculada, com o laser de 810 nm como referência. O protocolo original utilizou 10 mW, 300 segundos, 3 J/cm², resultando em uma fóton-fluência de 4,5 J/cm² (Einstein) (Young et al., 2022). O ajuste da dose pode ser feito através da alteração da potência ou do tempo de exposição e, em nosso estudo, optou-se por variar a potência. Com

base na fóton-fluência utilizada pelo laser de 810 nm, o protocolo de irradiação com o laser de 1064 nm foi ajustado para 12 mW, 300 segundos, 3,6 J/cm² e fóton-fluência de 4,5 J/cm².

Embora a via de ativação do TGF- β tenha grande participação na indução da diferenciação celular, através da fosforilação e translocação de Smad presente no citoplasma para o núcleo celular (Stuelten et al., 2005; Wakefield; Roberts, 2002), não foi possível observar este efeito de forma pronunciada neste estudo. Para a realização da imunofluorescência, foram escolhidos apenas os grupos que apresentaram maior ativação da ALP. A avaliação qualitativa das imagens não indica maior translocação de Smad nos grupos tratados em relação ao controle, embora para o grupo tratado com 1 W pode ser observado um ligeiro acúmulo de forma mais acentuada de Smad no núcleo celular. As imagens sugerem que, diferente do efeito produzido pelo laser de 810 nm, o laser de 1064 nm pode ativar outras vias responsáveis pela diferenciação celular.

Os resultados obtidos após o ensaio de AlamarBlue indicam que o protocolo de PBM (G5 e G6), com ou sem atenuação, foi eficaz na indução da expansão celular de forma proeminente, diferindo do grupo controle. Para os demais grupos tratamento (G2, G3 e G4), apesar de diferenças significativas não terem sido encontradas em relação ao grupo controle, foi observado que as irradiações com todos os parâmetros testados também induziram a proliferação celular. A proliferação celular é um efeito desejado em casos em que a regeneração tecidual é necessária, e no campo da endodontia pode ter papel importante na revascularização e reparação do tecido pulpar (Murray, 2018). Estes resultados sugerem que a PBM com o laser de 1064 nm representa uma alternativa terapêutica eficiente para a regeneração tecidual, semelhante aos efeitos de outros lasers (Bidar et al., 2021; Khadra et al., 2005). Os resultados do presente estudo mostram que lasers com comprimento de onda de 1064 nm são promissores para o uso não somente obliterador, mas também para as respostas fotobiomodulatórias no controle de dor da HD.

Para que protocolos clínicos dessensibilizantes no cenário *in vitro*, sem que o aumento de temperatura intrínseco aos protocolos escolhidos resultasse em morte celular, optou-se por simular o teto de uma câmara pulpar com a colocação de um disco de dentina sobre as células em cultivo durante as irradiações. Dessa forma, a radiação laser atingia primeiro a dentina, sendo parcialmente absorvida, e os efeitos da radiação residual foram observados de acordo com o comportamento celular. Essa

simulação teve por objetivo aproximar o experimento do cenário clínico, uma vez que as irradiações não ocorrem de forma direta sobre o tecido pulpar durante o tratamento da HD. Durante um estudo piloto, a espessura de 1 mm para os discos de dentina foi definida. Os discos de dentina foram preparados a partir de secções transversais da porção coronária de molares humanos. Com essa espessura, a padronização dos espécimes de dentina foi mais precisa, sendo possível remover todo o esmalte oclusal e áreas de corno pulpares. Um estudo anterior mostrou que a espessura do espécime de dentina de 1 mm, em comparação com a espessura de 2 mm, não influenciou no aumento de temperatura causado pela irradiação com o laser de 1064 nm com um protocolo semelhante ao do atual estudo (Santis et al., 2017). Embora a medição da temperatura no presente estudo não tenha sido realizada, foi constatado que as irradiações, com todos os parâmetros testados, não influenciaram na viabilidade celular. A segurança da irradiação com laser de 1064 nm, e a viabilidade de seu uso *in vivo* também foram evidenciadas em outros estudos (Machado et al., 2019; Maximiano et al., 2018; Santis et al., 2017). Em todos os grupos houve atenuação da energia, com diferença entre os parâmetros de saída (*output*) e os de chegada. A atenuação provocada pelos discos de dentina foi muito maior do que a causada pelo meio de cultivo unicamente, como esperado. A atenuação provocada pelos diferentes protocolos de irradiação parece não ter variado consideravelmente de acordo com a energia utilizada. Este achado vai ao encontro da literatura básica que associa a profundidade de penetração da energia laser com o comprimento de onda utilizado e a relação deste com os cromóforos presentes no tecido (Lima et al., 2020). Dessa forma, a atenuação da energia parece ter uma maior relação com o comprimento de onda utilizado do que com a energia unicamente.

Associações diretas entre os resultados do presente estudo e a realidade clínica devem ser cuidadosamente colocadas, em virtude da complexidade da interação entre a radiação e os tecidos biológicos. Em nosso estudo, utilizamos culturas celulares de origem animal, de mesma linhagem e cultivadas em monocamadas *in vitro*. Embora esse modelo de cultura seja amplamente validado, a conformação espacial encontrada nos tecidos biológicos não é reproduzida, bem como a interação entre os diferentes tipos celulares. Outra limitação do estudo foi a impossibilidade da simulação da pressão intrapulpar durante as irradiações em dentina, que pode ter um papel na regulação da temperatura. Para testar as hipóteses deste estudo, modelos animais podem ser futuramente utilizados.

Dentro das limitações deste estudo, o modelo experimental proposto demonstrou que a energia transmitida através do tecido dentinário tem potencial para ser absorvida em maiores profundidades, através da transmissão e espalhamento da radiação, gerando efeitos de PBM mesmo em protocolos com doses mais elevadas.

3.6 CONCLUSÕES

A irradiação com o laser de diodo de 1064 nm é uma opção terapêutica promissora no controle de dor da hipersensibilidade dentinária e potencialmente uma alternativa para a regeneração pulpar. O laser de 1064 nm foi eficaz em promover a diferenciação de células odontoblásticas e a expansão celular, podendo ser considerado uma terapia segura para o tecido pulpar.

3.7 REFERÊNCIAS

Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med.* 2001;29(2):179-84. doi: 10.1002/lsm.1107.

Aranha AC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo Cde P. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: a preliminary in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2005 Oct;23(5):504-8. doi: 10.1089/pho.2005.23.504.

Arany PR, Cho A, Hunt TD, Sidhu G, Shin K, Hahm E, Huang GX, Weaver J, Chen AC, Padwa BL, Hamblin MR, Barcellos-Hoff MH, Kulkarni AB, J Mooney D. Photoactivation of endogenous latent transforming growth factor- β 1 directs dental stem cell differentiation for regeneration. *Sci Transl Med.* 2014 May 28;6(238):238ra69. doi: 10.1126/scitranslmed.3008234.

Azevedo LH, de Paula Eduardo F, Moreira MS, de Paula Eduardo C, Marques MM. Influence of different power densities of LILT on cultured human fibroblast growth : a pilot study. *Lasers Med Sci.* 2006 Jul;21(2):86-9. doi: 10.1007/s10103-006-0379-9. Epub 2006 May 13.

Bidar M, Bahlakeh A, Mahmoudi M, Ahrari F, Shahmohammadi R, Jafarzadeh H. Does the application of GaAlAs laser and platelet-rich plasma induce cell proliferation and increase alkaline phosphatase activity in human dental pulp stem cells? *Lasers Med Sci.* 2021 Aug;36(6):1289-1295. doi: 10.1007/s10103-020-03239-0. Epub 2021 Jan 18.

Blatz MB. Laser therapy may be better than topical desensitizing agents for treating dentin hypersensitivity. *J Evid Based Dent Pract.* 2012 Sep;12(3 Suppl):229-30. doi: 10.1016/S1532-3382(12)70044-1.

Braennstroem M, Astroem A. A study on the mechanism of pain elicited from the dentin. *J Dent Res.* 1964 Jul-Aug;43:619-25. doi: 10.1177/00220345640430041601. PMID: 14183350

Chabanski MB, Gillam DG, Bulman JS, Newman HN. Prevalence of cervical dentine sensitivity in a population of patients referred to a specialist Periodontology Department. *J Clin Periodontol.* 1996 Nov;23(11):989-92. doi: 10.1111/j.1600-051x.1996.tb00525.x.

Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.* 2003 Apr;69(4):221-6.

Cunha SR, Garófalo SA, Scaramucci T, Zezell DM, Aranha ACC. The association between Nd:YAG laser and desensitizing dentifrices for the treatment of dentin hypersensitivity. *Lasers Med Sci.* 2017 May;32(4):873-880. doi: 10.1007/s10103-017-2187-9. Epub 2017 Mar 14.

Diniz IM, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MR, Marques MM. Antimicrobial photodynamic therapy: a promise candidate for caries lesions treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015 Sep;12(3):511-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2015.04.006. Epub 2015 May 19.

Favaro Zeola L, Soares PV, Cunha-Cruz J. Prevalence of dentin hypersensitivity: Systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2019 Feb;81:1-6. doi: 10.1016/j.jdent.2018.12.015. Epub 2019 Jan 11.

Ferreira AN, Silveira L, Genovese WJ, de Araújo VC, Frigo L, de Mesquita RA, Guedes E. Effect of GaAlAs laser on reactional dentinogenesis induction in human teeth. *Photomed Laser Surg.* 2006 Jun;24(3):358-65. doi: 10.1089/pho.2006.24.358.

Gillam DG. Current diagnosis of dentin hypersensitivity in the dental office: an overview. *Clin Oral Investig.* 2013 Mar;17 Suppl 1(Suppl 1):S21-9. doi: 10.1007/s00784-012-0911-1. Epub 2013 Jan 8.

Holland GR, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.* 1997 Nov;24(11):808-13. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb01194.x.

Jacques SL. Laser-tissue interactions. Photochemical, photothermal, and photomechanical. *Surg Clin North Am.* 1992 Jun;72(3):531-58. doi: 10.1016/s0039-6109(16)45731-2.

Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:44-65. doi: 10.1159/000093350.

Jahangiri Noudeh Y, Shabani M, Vatankhah N, Hashemian SJ, Akbari K. A combination of 670 nm and 810 nm diode lasers for wound healing acceleration in diabetic rats. *Photomed Laser Surg.* 2010 Oct;28(5):621-7. doi: 10.1089/pho.2009.2634.

João-Souza SH, Scaramucci T, Hara AT, Aranha AC. Effect of Nd:YAG laser irradiation and fluoride application in the progression of dentin erosion in vitro. *Lasers Med Sci.* 2015 Dec;30(9):2273-9. doi: 10.1007/s10103-015-1802-x. Epub 2015 Sep 14.

Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys.* 1989 May;56(5):691-704. doi: 10.1097/00004032-198905000-00015.

Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B.* 1999 Mar;49(1):1-17. doi: 10.1016/S1011-1344(98)00219-X.

Khadra M, Lyngstadaas SP, Haanaes HR, Mustafa K. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. *Biomaterials.* 2005 Jun;26(17):3503-9. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.09.033.

Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol*. 2000 Oct;27(10):715-21. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027010715.x.

Lan WH, Lee BS, Liu HC, Lin CP. Morphologic study of Nd:YAG laser usage in treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod*. 2004 Mar;30(3):131-4. doi: 10.1097/00004770-200403000-00001.

Lima AMCT, da Silva Sergio LP, de Souza da Fonseca A. Photobiomodulation via multiple-wavelength radiations. *Lasers Med Sci*. 2020 Mar;35(2):307-316. doi: 10.1007/s10103-019-02879-1. Epub 2019 Sep 16.

Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod*. 1997 Nov;23(11):691-3. doi: 10.1016/S0099-2399(97)80403-7.

Lopes AO, Aranha AC. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and a desensitizer agent on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. *Photomed Laser Surg*. 2013 Mar;31(3):132-8. doi: 10.1089/pho.2012.3386. Epub 2013 Feb 19.

Lopes AO, de Paula Eduardo C, Aranha ACC. Evaluation of different treatment protocols for dentin hypersensitivity: an 18-month randomized clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2017 Jul;32(5):1023-1030. doi: 10.1007/s10103-017-2203-0. Epub 2017 Apr 8.

Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:1-15. doi: 10.1159/000360380. Epub 2014 Jun 26.

Machado AC, Maximiano V, Eduardo CP, Azevedo LH, de Freitas PM, Aranha AC. Associative Protocol for Dentin Hypersensitivity Using Nd:YAG Laser and Desensitizing Agent in Teeth with Molar-Incisor Hypomineralization. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*. 2019 Apr;37(4):262-266. doi: 10.1089/photob.2018.4575.

Machado AC, Viana ÍEL, Farias-Neto AM, Braga MM, de Paula Eduardo C, de Freitas PM, Aranha ACC. Is photobiomodulation (PBM) effective for the treatment of dentin hypersensitivity? A systematic review. *Lasers Med Sci*. 2018 May;33(4):745-753. doi: 10.1007/s10103-017-2403-7. Epub 2017 Dec 5.

Markowitz K, Kim S. The role of selected cations in the desensitization of intradental nerves. *Proc Finn Dent Soc*. 1992;88 Suppl 1:39-54.

Maximiano V, Machado AC, Yoshida ML, Pannuti CM, Scaramucci T, Aranha ACC. Nd:YAG laser and calcium sodium phosphosilicate prophylaxis paste in the treatment of dentin hypersensitivity: a double-blind randomized clinical study. *Clin Oral Investig*. 2019 Aug;23(8):3331-3338. doi: 10.1007/s00784-018-2759-5. Epub 2018 Nov 30.

Mjör IA. Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Braz Dent J*. 2009;20(1):3-16. doi: 10.1590/s0103-64402009000100001.

Mullen AC, Orlando DA, Newman JJ, Lovén J, Kumar RM, Bilodeau S, Reddy J, Guenther MG, DeKoter RP, Young RA. Master transcription factors determine cell-type-specific responses to TGF- β signaling. *Cell*. 2011 Oct 28;147(3):565-76. doi: 10.1016/j.cell.2011.08.050.

Murray PE. Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Can Induce Apical Closure More Frequently Than Blood-Clot Revascularization for the Regeneration of Immature Permanent Teeth: A Meta-Analysis of Clinical Efficacy. *Front Bioeng Biotechnol*. 2018 Oct 11;6:139. doi: 10.3389/fbioe.2018.00139.

Ohbayashi E, Matsushima K, Hosoya S, Abiko Y, Yamazaki M. Stimulatory effect of laser irradiation on calcified nodule formation in human dental pulp fibroblasts. *J Endod*. 1999 Jan;25(1):30-3. doi: 10.1016/S0099-2399(99)80395-1.

Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod*. 1986 Oct;12(10):465-74. doi: 10.1016/S0099-2399(86)80201-1.

Pereira AN, Eduardo Cde P, Matson E, Marques MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg Med*. 2002;31(4):263-7. doi: 10.1002/lsm.10107.

Porto IC, Andrade AK, Montes MA. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. *J Oral Sci*. 2009 Sep;51(3):323-32. doi: 10.2334/josnusd.51.323.

Rees JS, Jin LJ, Lam S, Kudanowska I, Vowles R. The prevalence of dentine hypersensitivity in a hospital clinic population in Hong Kong. *J Dent*. 2003 Sep;31(7):453-61. doi: 10.1016/s0300-5712(03)00092-7.

Santis LR, Silva TM, Haddad BA, Gonçalves LL, Gonçalves SE. Influence of dentin thickness on intrapulpal temperature under simulated pulpal pressure during Nd:YAG laser irradiation. *Lasers Med Sci*. 2017 Jan;32(1):161-167. doi: 10.1007/s10103-016-2098-1. Epub 2016 Oct 24.

Scaramucci T, de Almeida Anfe TE, da Silva Ferreira S, Frias AC, Sobral MA. Investigation of the prevalence, clinical features, and risk factors of dentin hypersensitivity in a selected Brazilian population. *Clin Oral Investig*. 2014;18(2):651-7. doi: 10.1007/s00784-013-1008-1. Epub 2013 Jun 6.

Stuelten CH, DaCosta Byfield S, Arany PR, Karpova TS, Stetler-Stevenson WG, Roberts AB. Breast cancer cells induce stromal fibroblasts to express MMP-9 via secretion of TNF-alpha and TGF-beta. *J Cell Sci*. 2005 May 15;118(Pt 10):2143-53. doi: 10.1242/jcs.02334. Epub 2005 Apr 26.

Wakefield LM, Roberts AB. TGF-beta signaling: positive and negative effects on tumorigenesis. *Curr Opin Genet Dev*. 2002 Feb;12(1):22-9. doi: 10.1016/s0959-437x(01)00259-3.

West N, Seong J, Davies M. Dentine hypersensitivity. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:108-22. doi: 10.1159/000360749. Epub 2014 Jun 26.

Whitters CJ, Hall A, Creanor SL, Moseley H, Gilmour WH, Strang R, Saunders WP, Orchardson R. A clinical study of pulsed Nd: YAG laser-induced pulpal analgesia. *J Dent*. 1995 Jun;23(3):145-50. doi: 10.1016/0300-5712(95)93571-i. Erratum in: *J Dent* 1996 Jan-Mar;24(1-2):151.

Xi Q, Wang Z, Zaromytidou AI, Zhang XH, Chow-Tsang LF, Liu JX, Kim H, Barlas A, Manova-Todorova K, Kaartinen V, Studer L, Mark W, Patel DJ, Massagué J. A poised chromatin platform for TGF- β access to master regulators. *Cell*. 2011 Dec 23;147(7):1511-24. doi: 10.1016/j.cell.2011.11.032.

Xu F, Qiao L, Zhao Y, Chen W, Hong S, Pan J, Jiang B. The potential application of concentrated growth factor in pulp regeneration: an in vitro and in vivo study. *Stem Cell Res Ther*. 2019 May 20;10(1):134. doi: 10.1186/s13287-019-1247-4.

Young NC, Maximiano V, Arany PR. Thermodynamic basis for comparative photobiomodulation dosing with multiple wavelengths to direct odontoblast differentiation. *J Biophotonics*. 2022 Jun;15(6):e202100398. doi: 10.1002/jbio.202100398. Epub 2022 Mar 3.

Zein R, Selting W, Hamblin MR. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. *J Biomed Opt*. 2018 Dec;23(12):1-17. doi: 10.1117/1.JBO.23.12.120901.

4 CAPÍTULO II

Associação do laser de Nd:YAG e pastas dessensibilizantes com fosfato de cálcio na permeabilidade dentinária e oclusão tubular.

4.1 RESUMO

Objetivo: Avaliar a eficácia do laser de Nd:YAG associado a pastas dessensibilizantes com fosfato de cálcio na permeabilidade dentinária e oclusão tubular após desafios erosivos e abrasivos. Metodologia: Espécimes de dentina foram expostos a EDTA (*ethylene diamine tetra-acetic acid*) 17% por 5 min e foram alocados randomicamente em um dos cinco grupos: G1, controle (sem tratamento); G2, laser de Nd:YAG (1 W, 10 Hz, 100 mJ, 85 J/cm²); G3, Laser + TeethmateTM Desensitizer; G4, Laser + Desensibilize Nano P; e G5, Laser + Nupro[®]. Espécimes foram submetidos a uma ciclagem erosivo-abrasiva de 5 dias. Condutância hidráulica foi medida nos tempos pós-EDTA, pós-tratamento e pós-ciclagem. A permeabilidade (%Lp) pós-tratamento e ciclagem foi calculada com base nas medições após EDTA, que foi considerada 100%. Túbulos dentinários abertos (TDA) foram contados nos tempos experimentais usando microscopia eletrônica de varredura ambiental e o software ImageJ (n = 10). Os dados foram analisados usando Anova 2 fatores para medidas repetidas e teste de Tukey ($\alpha = 0.05$). Resultados: G1 apresentou a maior %Lp entre todos os grupos após tratamento ($p < 0.05$), sem diferenças significativas entre eles. Na avaliação pós-ciclagem, a %Lp diminuiu significativamente em G1. No mesmo tempo experimental, G3 e G4 não apresentaram diferenças de %Lp em comparação ao tempo pós-tratamento, enquanto G2 e G5 apresentaram aumento da %LP, embora nenhum grupo tenha diferido de G1 ($p > 0.05$). Não encontramos diferenças significativas ($p > 0.05$) em TDA entre grupos pós-EDTA. No tempo pós-tratamento, grupos tratados não diferiram entre si, mas apresentaram menos TDA quando comparados a G1 ($p < 0.001$). No tempo pós-ciclagem não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais ($p > 0.05$), embora todos tenham apresentado redução significativa de TDA em comparação a pós-EDTA ($p < 0.001$).

Conclusões: Todos os tratamentos reduziram de forma efetiva a permeabilidade dentinária e promoveram oclusão tubular. O uso combinado do laser de Nd:YAG com pasta de fosfato de cálcio não foi melhor do que o efeito do laser utilizado isoladamente. Após os desafios erosivo-abrasivos, os tratamentos não apresentaram diferenças em comparação com o grupo controle.

4.2 INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária (HD) é uma condição dolorosa comum definida como uma dor aguda e curta resultante de dentina exposta em resposta à estímulos externos, como termal, osmótico, químico ou evaporativo, não relacionada com nenhuma outra doença ou defeito dental (Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity, 2003). A prevalência da HD varia amplamente entre os estudos, podendo ser tão alta quanto 89.1% (Teixeira et al., 2018). Estudos demonstram que dentes sensíveis possuem maior quantidade de túbulos dentinários expostos e com maior diâmetro do que dentes não sensíveis, sendo que a permeabilidade dos túbulos dentinários é uma condição importante e necessária para que a HD aconteça (Absi et al., 1987). Formulada por Gysi (1900) e posteriormente desenvolvida por Brännström e Aström em 1972, a teoria hidrodinâmica pressupõe que receptores de dor localizados na interface pulpo-dentinária podem ser ativados por estímulos que alteram o fluxo do fluido dentinário (Brännström; Aström, 1972). Baseado nesta teoria, a oclusão dos túbulos dentinários e redução da permeabilidade dentinária são consideradas abordagens racionais para prevenção de estímulos que causem dor.

Há uma grande variedade de agentes dessensibilizantes para o tratamento da HD, cada um com diferentes mecanismos de ação e efetividades. Entretanto, não há ainda um consenso sobre o melhor tratamento para esta condição. Fluoretos, oxalatos, estrôncio, formulações com fosfato de cálcio e os lasers são alguns dos agentes utilizados no manejo da HD (Cunha et al., 2017). Por sua capacidade em ocluir túbulos dentinários por deposição mineral, produtos à base de fosfato de cálcio são considerados opções promissoras (Suge et al., 2002). Embora utilizados efetivamente no alívio imediato da dor, alguns desses agentes não são capazes de

resistir aos desafios erosivos e abrasivos (Berkathullah et al., 2018; Machado et al., 2019). A associação de tratamentos tem demonstrado resultados superiores na oclusão tubular, como o uso dos lasers de alta potência juntamente aos agentes dessensibilizantes (Farmakis et al., 2012). Entretanto, a efetividade do tratamento associativo em resistir em longo prazo, quando comparados aos tratamentos com agentes isolados, ainda não está consolidada (Cunha et al., 2017).

Entre os lasers de alta potência, o laser de Nd:YAG tem sido largamente utilizado no tratamento da HD (Maximiano et al., 2018). O laser de Nd:YAG age por efeitos térmicos, derretendo a superfície dentinária, resultando em obliteração ou estreitamento dos túbulos dentinários e formando uma superfície coberta (Liu et al., 1997). Quando comparado a outros lasers, o laser de Nd:YAG apresenta efeitos superiores na redução da dor e obliteração, devido à camada homogênea de *melting* resultante da irradiação (Gholami et al., 2011). Com protocolos controlados, este laser é considerado seguro, não causa danos pulparem ou defeitos em dentina como fissuras ou crateras (Dilsiz et al., 2010). A irradiação manual da dentina pode resultar em áreas sem alterações morfológicas e com túbulos sem obliteração, devido à dificuldade em cobrir toda a superfície igualmente (João-Souza et al., 2015). Considerando-se que as irradiações são sempre realizadas de forma manual na rotina clínica, a utilização de um agente obliterador adicional pós-irradiação poderia melhorar a oclusão tubular, reduzindo a permeabilidade dentinária.

Este estudo *in vitro* teve por objetivo avaliar a eficácia do laser de Nd:YAG associado a três agentes dessensibilizantes contendo fosfato de cálcio – Teethmate™ Desensitizer (Fosfato Tetracálcico e Fosfato Dicálcico); Desensibilize Nano P (Nano-hidroxiapatita); e pasta Nupro contendo NovaMin® (Fosfosilicato de cálcio e sódio) – na oclusão de túbulos dentinários e redução da permeabilidade dentinária imediatamente após as aplicações e após desafios erosivos e abrasivos. Nossas hipóteses nulas foram: 1. Não haverá diferenças entre Grupos em relação à oclusão tubular após os tratamentos; e 2. Grupos não exibirão diferenças em permeabilidade dentinária e oclusão tubular após a ciclagem erosivo-abrasiva.

4.2 MÉTODOS

Baseado em um design totalmente randomizado, este estudo incluiu dois fatores experimentais: tratamento dessensibilizante e momento experimental. O fator “tratamentos dessensibilizantes” corresponde à cinco grupos (Quadro 4.1): G1, controle (sem tratamento); G2, laser de Nd:YAG (Power Laser, Lares Research, São Clementino, CA, EUA – processo FAPESP 07/55497-0); G3, laser de Nd:YAG + Teethmate Desensitizer (Kuraray, Chiyoda, Tóquio, Japão); G4, laser de Nd:YAG + Desensibilize Nano P (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil); e G5, laser de Nd:YAG + pasta profilática Nupro (Dentsply, Iorque, Pensilvânia, EUA). A condutância hidráulica para cada grupo foi analisada em dois momentos experimentais: pós-tratamento e pós-ciclagem. Microscopia eletrônica de varredura ambiental (MEV) (Hitachi Analytical Table Top Microscope TM3000, Hitachi, Tóquio, Japão) foi utilizada em três momentos: pós-EDTA (baseline), pós-tratamento e pós-ciclagem. Cada grupo possuía 10 espécimes de dentina humana ($n = 50$ para condutância hidráulica e $n = 50$ para MEV). A análise de condutância hidráulica mede permeabilidade (%Lp), determinada com base na permeabilidade pós-EDTA, enquanto a MEV é utilizada para análise qualitativa da superfície dentinária e análise quantitativa com contagem de túbulos dentinários abertos (TDA) utilizando o software ImageJ.

4.2.1 Preparação dos espécimes – Permeabilidade dentinária e MEV

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos local (processo #2.340.539) (Anexo A). Após serem analisados sob microscópio estereoscópico (Meiji 2000) com magnificação de 10x, 70 molares humanos hígidos foram selecionados e limpos com auxílio de curetas para a remoção de tecido gengival e cálculos remanescentes. As coroas foram então separadas das raízes – coroas foram utilizadas para análises de permeabilidade dentinária e as raízes para as avaliações com MEV. Duas secções paralelas com 1,5 mm de distância entre si foram feitas na porção média das coroas, perpendicularmente ao longo eixo dos dentes. Discos de dentina foram seccionados evitando a câmara pulpar e o esmalte oclusal.

Espécimes quadrados de dentina (4 mm x 4 mm x 2 mm) foram obtidos da região média das raízes a partir de duas secções perpendiculares ao longo eixo do dente e duas secções paralelas ao longo eixo, utilizando uma máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Buff, Illinois, EUA). Espécimes de dentina com fraturas, materiais restauradores, lesão de cárie ou outras anormalidades foram descartados. As superfícies dentinárias foram em seguida polidas em uma politriz (Buehler Ltd, Lake Buff, Illinois, EUA) utilizando discos abrasivos de granulação 600 sob pressão de 1 N, com constante irrigação com água, até que os espécimes estivessem com 1 mm de espessura. As medidas dos espécimes foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo, Tóquio, Japão). Ao final do polimento, os espécimes foram lavados em cuba ultrassônica (Cristófoli, Campo Mourão, Paraná, Brasil) por 3 minutos em água destilada, para remoção de debris.

4.2.2 Simulação da hipersensibilidade dentinária

Para promover abertura dos túbulos dentinários e simulação da HD, todos os espécimes foram imersos em solução de ácido etilenodiamina tetra acético (EDTA), pH 7.4, por 5 minutos, lavados em água destilada e armazenados em umidade relativa a 4°C (Machado et al., 2019). A medição da permeabilidade dentinária e a contagem de túbulos foram então realizadas, com os valores considerados como baseline. Então, os espécimes foram randomicamente alocados em diferentes grupos (n = 10 para permeabilidade dentinária e n = 10 para avaliação em MEV).

4.2.3 Realização dos tratamentos

Os espécimes foram retirados da umidade relativa e gentilmente secados com papel absorvente para remoção do excesso de água das superfícies. Em seguida, cada tratamento foi administrado nas superfícies oclusais conforme parâmetros de irradiação do laser que demonstraram bons resultados na literatura (Machado et al., 2019; Maximiano et al., 2018) e seguindo as instruções dos fabricantes. Espécimes

do grupo controle foram gentilmente secados, conforme descrito anteriormente, e não tiveram nenhum tratamento adicional. Até o final das análises pós-ciclagem, os espécimes tratados foram mantidos em umidade relativa a 4°C, com espécimes envolvidos em gaze umidificada em água destilada e armazenados em recipientes fechados. Os grupos que receberam tratamento associativo foram irradiados com laser de Nd:YAG antes da aplicação dos agentes dessensibilizantes, de acordo com o protocolo descrito no Quadro 4.1.

4.2.4 Ciclagem erosivo-abrasiva

Simulamos o ambiente intraoral natural através de uma ciclagem erosiva e abrasiva de 5 dias (Machado et al., 2019). Primeiro, os espécimes foram imersos por 2 minutos em ácido cítrico (0.3 %, pH natural de aprox. 2,6) e em seguida passaram pela remineralização em saliva artificial por 60 seg. (0.213 g/l CaCl₂·2H₂O; 0.738 g/l KH₂PO₄; 1.114 g/l KCl; 0.381 g/l NaCl; 12 g/l Tris buffer, pH ajustado para 7.0 com HCl) (Scaramucci et al., 2011) sob constante movimento em mesa agitadora (35 rpm, AI9000IB, BrILabs). O ciclo de erosão e remineralização foi realizado quatro vezes por dia. Trinta minutos após o primeiro e último desafio erosivo, espécimes eram escovados por 15 seg. em uma máquina de escovação automática (45 ciclos – cada um representando o movimento de ida e volta, sob carga de 2 N; exposição total ao *slurry* de 2 minutos). A escovação foi realizada com escovas comuns (Tek, cerdas macias, Johnson & Johnson, Brasil) e dentífrico fluoretado convencional (Colgate Máxima Proteção anti-Cáries, Colgate Palmolive, Brasil, monofluorofosfato de sódio, 1450 ppm de Flúor) diluído em água destilada (razão de 1:3) para compor o *slurry*. Após cada ciclo erosivo-abrasivo, os espécimes eram lavados com água destilada e gentilmente secos com papel absorvente antes de serem imersos em saliva artificial. Todos os procedimentos foram realizados em temperatura ambiente (aprox. 23°C). Ao final de cada ciclo, os espécimes eram mantidos em saliva artificial com constante agitação até o próximo ciclo, no dia seguinte. As soluções de ácido cítrico eram substituídas por novas após cada desafio erosivo bem como a saliva artificial antes de cada novo ciclo.

Após cinco dias de ciclagem erosivo-abrasiva, a permeabilidade dentinária (%Lp), análise qualitativa superficial e contagem de túbulos dentinários abertos (TDA) utilizando microscopia eletrônica de varredura ambiental (MEV) eram aferidas.

4.2.5 Análise da permeabilidade dentinária

A permeabilidade dentinária foi avaliada através da condutância hidráulica usando um equipamento que simula a pressão intrapulpar (Odeme Equipamentos Médicos e Odontológicos, Ltda, Luzerna, Brasil). Para tanto, discos de dentina (n = 10) foram posicionados na câmara de fluxo da máquina com as faces oclusais dos discos para cima. Dentro do sistema, a água flui através do disco de dentina, de baixo para cima, simulando a pressão intrapulpar. O sistema era mantido em constante pressão de 10 psi durante o experimento. Em cada análise, o fluxo de água era medido por deslocamento linear (mm) durante 3 minutos, dentro de um tubo microcapilar de vidro (100 µl) com uma bolha de ar, renovada a cada medição. As medições eram repetidas três vezes para cada espécime e uma média simples era calculada. Os resultados foram convertidos para volume de fluxo ($\mu\text{l min}^{-1}$) e então para condutância hidráulica Lp ($\text{min}^{-1} \text{cm}^2 \text{cmH}_2\text{O}^{-1}$) (Thanatvarakorn et al., 2013). A medida de condutância hidráulica levava em conta o volume de fluxo previamente calculado, a área pela qual a água passava através do espécime de dentina ($0,058 \text{ cm}^2$) e a pressão do sistema hidráulico (10 psi) convertido para cmH_2O ($703,07 \text{ cmH}_2\text{O}$). Cada valor de Lp foi calculado no pós-tratamento e pós-ciclagem, e a condutância hidráulica (%Lp) foi calculada com base nos valores do baseline (pós-EDTA, que foi considerado como 100%). Dessa forma, cada espécime serviu como seu próprio controle (João-Souza et al., 2018; Hiller et al., 2018).

4.2.6 Microscopia eletrônica de varredura ambiental (MEV ambiental)

Os espécimes foram qualitativamente e quantitativamente analisados por MEV ambiental (Hitachi TM3000, Hitachi, Tóquio, Japão) nos tempos pós-EDTA, pós-

tratamento e pós-ciclagem, sem a necessidade de preparação dos espécimes. Micrografias representativas com magnificação de 2000x foram tomadas no centro de cada espécime. A análise quantitativa foi realizada com a contagem de TDA, utilizando o software ImageJ (n = 10) (Garofalo et al., 2018).

Quadro 4.1 - Tratamentos dessensibilizantes de consultório:

Tratamento	Fabricante	Ingredientes ativos	Forma de utilização
Controle negativo	-	-	Sem tratamento
Laser de Nd:YAG	Power Laser ST6, Lares Research (São Clemente, CA, EUA)	Nd:YAG (1 W de potência, frequência de 10 Hz, 100 mJ de energia, e aprox. 85 J/cm ² de densidade de energia)	4 irradiações de 10 seg. Com 15 seg. de intervalo entre cada uma. Irradiação em contato sobre toda a superfície nos sentidos vertical e horizontal
Teethmate™ Desensitizer	Kuraray (Chiyoda, Tóquio, Japão)	Fosfato tetra cálcico e dicálcio anidro	Mistura de 1 gosta com 1 espátula cheia de pó por mais de 15 seg. para criar pasta. Aplicação sobre a área por mais de 30 seg. e lavagem com jato de água
Desensibilize Nano P	FGM (Joinville, Santa Catarina, Brasil)	Fosfato de cálcio nanométrico; fluoreto de sódio e nitrato de potássio	Aplicação vigorosa sobre dentina com fricção por 10 segundos. Produto em contato por 5 min. E remoção do excesso com algodão
Nupro®	Dentsply (Iorque, Pensilvânia, EUA)	NovaMin® - 15% fosfosilicato de cálcio e sódio	Aplicação da pasta com taça de borracha em baixa rotação. Produto em contato por 60 seg. antes da lavagem

Fonte: o autor.

4.2.7 Análise estatística

Os dados de %Lp e contagem de TDA foram analisados utilizando o teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade e o teste de Brown-Forsythe para homoscedasticidade. Como os dados aderiram à curva de normalidade e foram homocedásticos, os grupos foram comparados pelo teste ANOVA 2-fatores para medidas repetidas e teste de Tukey. O nível de significância foi de 5 %. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software SigmaPlot 13 (Systat software Inc., EUA).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Permeabilidade dentinária

Não foram encontradas diferenças significativas para permeabilidade dentinária entre os tratamentos dessensibilizantes ($p = 0.139$), mas houve diferenças entre tempos experimentais ($p < 0.001$) e interação entre fatores ($p < 0.001$).

A figura 4.1 exibe valores médios e desvio-padrão para permeabilidade (%Lp) para todos os grupos nos momentos pós-tratamento e pós-ciclagem. Com relação aos tratamentos dessensibilizantes, todos os agentes apresentaram %Lp significativamente menor do que grupo controle (G1) no pós-tratamento ($p < 0.05$), mas não houve diferenças entre grupos tratamento ($p > 0.05$). Em pós-ciclagem, não foram detectadas diferenças entre grupos ($p > 0.05$). Quando comparamos os tempos experimentais (pós-tratamento e pós-ciclagem), apenas G3 e G4 não apresentaram diferenças significativas de %Lp ($p > 0.05$). Pós-ciclagem, G1 apresentou redução da %Lp, enquanto G2 e G5 exibiram aumento da %Lp.

4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura ambiental

4.3.2.1 Avaliação quantitativa

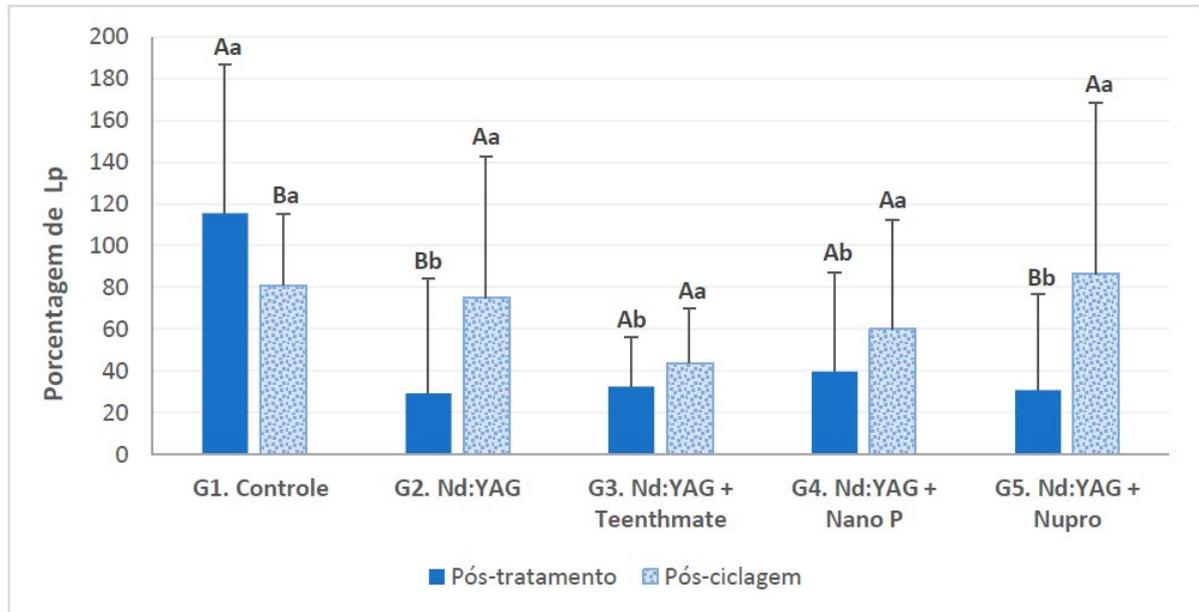
A quantidade de TDA diferiu significativamente entre os grupos dessensibilizantes ($p < 0.001$) e tempos experimentais ($P < 0.001$). Também houve diferença significativa na interação entre fatores ($p = 0.007$).

A figura 4.2 exibe as médias e desvios-padrão da contagem de TDA para todos os grupos pós-EDTA (baseline), pós-tratamento e pós-ciclagem. Não foram encontradas diferenças em TDA entre grupos pós-EDTA ($p > 0.05$). Pós-tratamento, G1 apresentou uma maior quantidade de TDA em comparação com os demais grupos tratamento ($p < 0.001$), que não diferiram entre si ($p > 0.05$). Pós-ciclagem, TDA não diferiu significativamente entre os grupos ($p > 0.05$). Nas comparações entre tempos experimentais, todos os grupos apresentaram diferenças entre os valores em pós-EDTA e pós-tratamento ($p < 0.001$), com exceção de G1 ($p > 0.05$). O grupo controle também apresentou menor quantidade de TDA pós-ciclagem em comparação ao tempo pós-tratamento ($p < 0.05$). Para os demais grupos, TDA não diferiu entre tratamentos no pós-ciclagem ($p > 0.05$). Todos os grupos mostraram diminuição significativa em TDA ($p \leq 0.001$) entre os tempos pós-EDTA e pós ciclagem.

4.3.2.2 Avaliação qualitativa

A figura 4.3 exibe micrografias representativas de cada grupo. Pós-EDTA, todos os grupos apresentam superfícies dentinárias sem camada de esfregaço e com grande quantidade de TDA. Pós-tratamento, o grupo controle G1 exibe as mesmas características do baseline. Os espécimes do G2 mostram áreas de *melting* em dentina com uma superfície irregular e túbulos dentinários estreitados ou obliterados, embora algumas áreas com túbulos abertos sejam visíveis.

Figura 4.1 - Médias (desvios-padrão) de %Lp para todos os grupos nos dois tempos experimentais.

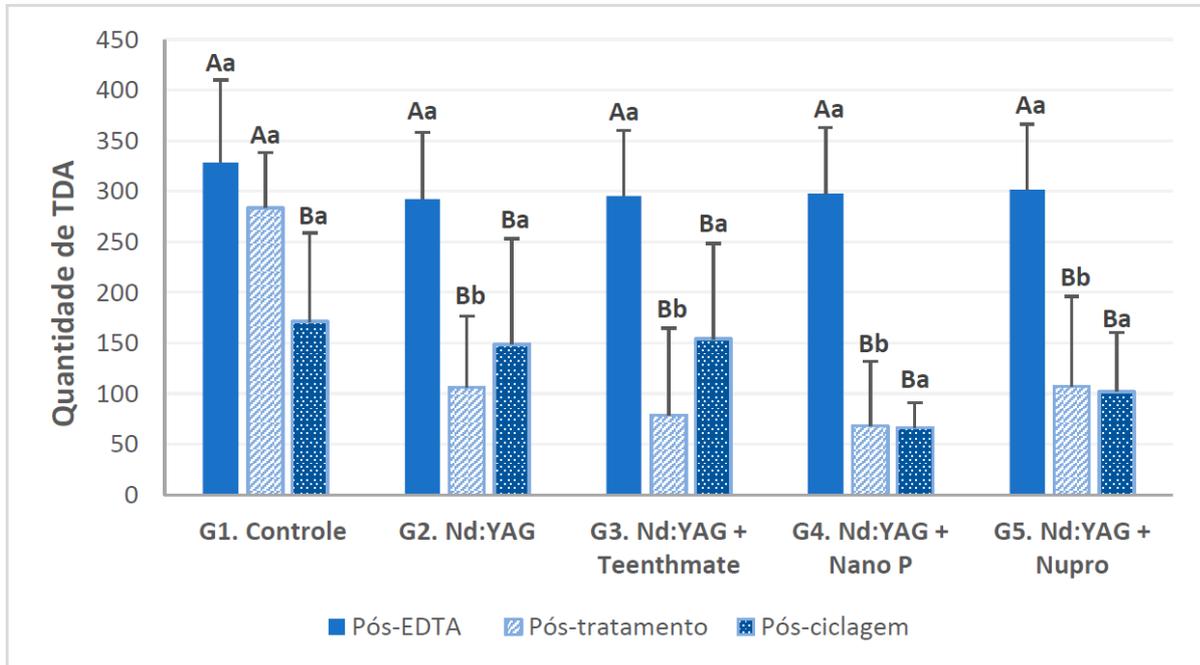


Letras maiúsculas diferentes implicam diferenças entre tempos experimentais para cada grupo ($p \leq 0.05$). Letras minúsculas diferentes denotam diferenças entre grupos dentro de cada momento ($p \leq 0.05$).

Fonte: o autor.

Em G3 as imagens exibem uma superfície com a formação de uma camada semelhante a cristais, com grande variação de tamanhos. Em áreas sem a cobertura com cristais é possível observar TDA, túbulos parcialmente obliterados e *melting* da dentina. Micrografias do G4 mostram zonas de *melting* (indicadas pela letra M na Figura 4.3) associadas com pequenos depósitos semelhantes a cristais (indicados pela letra C), embora também sejam visíveis áreas sem tratamento. Os cristais formados no G4 parecem de menor tamanho do que os observados no G3. Em geral, há várias áreas com TDA visíveis entre as zonas com deposição de cristais. Em G5 há uma camada heterogênea com a deposição de cristais que ocluem os túbulos dentinários de forma parcial ou total. Nas áreas com cristais de maior tamanho, TDA podem ser vistos através das deposições minerais.

Figura 4.2 - Médias (desvios-padrão) de TDA para todos grupos em todos os tempos experimentais.

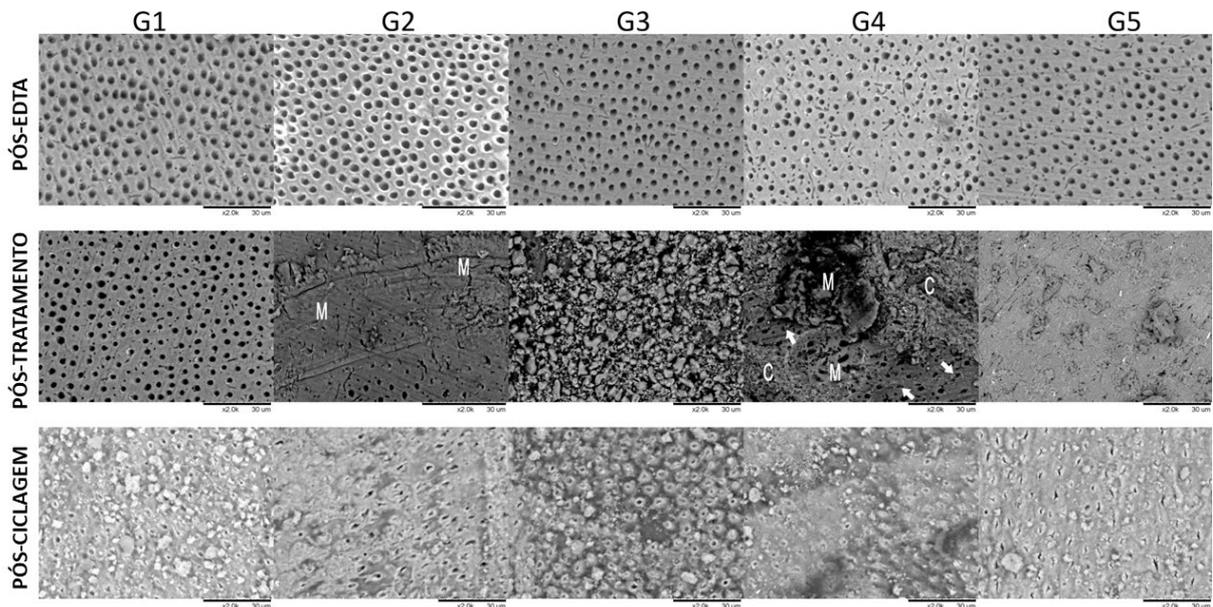


Letras maiúsculas diferentes implicam diferenças entre tempos experimentais para cada grupo ($p \leq 0.05$). Letras minúsculas diferentes denotam diferenças entre grupos dentro de cada momento ($p \leq 0.05$).

Fonte: o autor.

Pós-ciclagem, G1 apresentou uma camada de esfregaço cobrindo a superfície dentinária com túbulos dentinários totalmente obliterados ou com lúmen reduzido. G2 apresentam algumas zonas com fendas e túbulos dentinários abertos, embora com menos diâmetro do que os observados pós-EDTA, assim como áreas com esfregaço e grânulos cobrindo os túbulos dentinários. Todos os demais grupos com tratamento associativo (G3, G4 e G5) exibem uma superfície dentinária com túbulos dentinários parcialmente obliterados, assim como deposição de uma camada de esfregaço e depósitos granulares superficiais.

Figura 4.3 - Micrografias representativas dos tratamentos para cada grupo e tempo experimental (magnificação de 2000x).



(M) *Melting*; (C) Camada de cristais. Setas indicam deposição de cristais dentro dos túbulos dentinários.
Fonte: O autor.

4.5 DISCUSSÃO

Considerando o mecanismo de dor proposto pela teoria hidrodinâmica (Brännström; Aström, 1972), é um consenso que a diminuição do número de túbulos dentinários abertos reduz a dor relacionada à hipersensibilidade dentinária (Pashley, 1986). Nosso estudo utilizou um modelo para avaliar a eficácia dos tratamentos dessensibilizantes testados na permeabilidade dentinária e oclusão tubular. Para simular a pressão pulpar e expressar os resultados de forma objetiva e quantitativa, a condutância hidráulica foi o método empregado. Em adição, a microscopia eletrônica de varredura ambiental oferece informações sobre a topografia da superfície dentinária, permitindo a avaliação da morfologia e magnitude da oclusão tubular. Este método não requer preparo prévio das amostras, permitindo que o mesmo espécime seja avaliado em diferentes tempos. Os resultados da permeabilidade dentinária e oclusão tubular mostraram respostas similares em nosso estudo.

Nós avaliamos a eficácia do laser de Nd:YAG associado com pastas à base de fosfato de cálcio na redução da permeabilidade dentinária e oclusão tubular após a realização dos tratamentos. Os resultados mostraram que todos os tratamentos atingiram o objetivo primário, reduzindo a permeabilidade dentinária e gerando oclusão tubular, em comparação com o baseline pós-EDTA. Imediatamente após a aplicação, todos os tratamentos exibiram menor %Lp e TDA do que o grupo controle. Esses achados indicam que nossa primeira hipótese nula foi rejeitada. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, o que sugere que todos foram igualmente efetivos. Com base nisso, o efeito do laser parece não ser melhor quando associado aos agentes dessensibilizantes testados.

A literatura demonstrou que o laser de Nd:YAG altera a superfície dentinária, sendo relevante para o tratamento da HD. As irradiações com o laser de Nd:YAG aumentam a temperatura da superfície dentinária, causando derretimento (*melting*) e resolidificação imediata da dentina, com conseqüente obliteração tubular. Corroborando com outros estudos (Cunha et al., 2017; Farmakis et al., 2012), nossos resultados mostraram que a irradiação com laser de Nd:YAG promove a redução da permeabilidade dentinária e aumenta a oclusão tubular. Este laser é utilizado em varredura sobre a superfície dentinária, em contato, com auxílio de uma fibra óptica perpendicular à superfície. Apesar dos esforços em cobrir toda a superfície durante as irradiações, as imagens em MEV pós-tratamento exibem áreas sem qualquer alteração morfológica e túbulos abertos, provavelmente onde a irradiação não atingiu. Como já descrito na literatura (João-Souza et al., 2018), esta é uma desvantagem inerente à irradiação manual. Baseado em nosso estudo prévio em que mostramos os efeitos isolados das pastas (Machado et al., 2019), assumimos que a combinação dos lasers com esses agentes traria um efeito complementar, com oclusão tubular dos túbulos não atingidos durante a irradiação. Entretanto, esse desfecho não foi observado neste estudo. Embora todos os espécimes tratados com laser de Nd:YAG apresentem áreas com túbulos abertos, podemos supor que a irradiação pode ter sido eficiente e suficiente, de forma que não pôde ser encontrado nenhum efeito adicional através da associação dos tratamentos. Podemos também assumir que, diferente dos vernizes e dessensibilizantes líquidos, a consistência das pastas dificulte uma cobertura maior e homogênea da superfície dentinária (Garofalo et al., 2018). Os parâmetros de irradiação com o laser de Nd:YAG foram 100 mJ, 1 W, 10 Hz,

aproximadamente 85 J/cm², protocolo que foi considerado seguro e eficiente na oclusão tubular (Cunha et al., 2017).

Recentemente explorado e ainda pouco testado, Teethmate Desensitizer (TD) é um material ligeiramente alcalino que contém fosfato tetracálcico (TTCP) e o pó de fosfato dicálcico anidro (DCPA), que resulta em hidroxiapatita (HA) quando exposto a soluções aquosas, como a saliva (Öncü et al., 2017). Uma característica interessante do TD é que a dissolução de TTCP/DCPA fornece uma solução supersaturada de íons cálcio e fosfato, favorecendo a precipitação contínua de HA no ambiente oral (Chow, 2009). A precipitação de fosfato de cálcio parece ocluir os túbulos dentinários até uma profundidade de 10 a 15 µm, e o fluoreto age na transformação de DCPA em hidroxiapatita (Suge et al., 1995). Em nosso estudo, micrografias do G3 mostraram uma camada heterogênea de depósitos de cristais sobre a superfície dentinária, bem como áreas de *melting*, com poucos túbulos aparentes no pós-tratamento, bem como alguns depósitos minerais no interior dos túbulos. A associação de TD e laser de Nd:YAG foi efetiva na oclusão e diminuição do lúmen tubular após os tratamentos, corroborando com estudos prévios que demonstraram o potencial de TD, utilizado isoladamente, na redução da permeabilidade dentinária (Öncü et al., 2017; Thanatvarakorn et al., 2013).

Nano-hidroxiapatita (N-HA) – o agente dessensibilizante presente na pasta Desensibilize Nano P (DNP) – é muito similar à apatita dental (Vandiver et al., 2005) e é considerada um dos materiais mais biocompatíveis, tendo sido utilizado para regeneração óssea e remineralização dental (Tschoppe et al., 2011). Quando aplicado sobre dentina, N-HA reduz efetivamente a permeabilidade dentinária, promovendo remineralização e oclusão tubular (Canali et al., 2017). No presente estudo, a associação de DNP e laser de Nd:YAG (G4) mostrou redução de %Lp e TDA pós-tratamento, significativamente menor do que os valores do grupo controle. Micrografias do G4 exibem áreas de *melting* dentinário intercaladas com depósitos de cristais, onde os túbulos não estão aparentes. Entretanto, observamos TDA em outras áreas, indicando que os tratamentos não atingiram toda a superfície de forma homogênea. Apesar disso, verificamos a presença de cristais dentro de alguns túbulos, indicando que a N-HA pode ter contribuído para o estreitamento deles (setas na Figura 4.3). Resultados da permeabilidade dentinária são compatíveis com a contagem de TDA e observações qualitativas através das imagens feitas em MEV.

A pasta profilática Nupro (NU) contém 15% NovaMin (nome comercial para fosfosilicato de cálcio e sódio – CSP). Em meio aquoso, CSP libera íons de cálcio e fosfato que reagem para formarem hidroxicarbonato apatita (HCA), um produto quimicamente semelhante à hidroxiapatita dental, cuja deposição forma uma camada cristalina capaz de obliterar túbulos dentinários (Andersson; Kangasniemi, 1991). No pós-tratamento, imagens do G5 mostraram a maior parte da superfície dentinária coberta por uma camada de cristais, com os poucos túbulos aparentes também parcialmente obliterados. Não foram observadas áreas de *melting*, o que sugere que a deposição de HCA cobriu as áreas previamente irradiadas. Este achado pode ser apontado como um efeito positivo do tratamento associativo, como as áreas não tratadas estavam mais esparsas nas amostras do grupo. Não foram encontradas diferenças entre G5 e demais grupos tratamento para %Lp e TDA, corroborando com estudos anteriores que testaram a associação do laser de Nd:YAG com a pasta de CSP (Cunha et al., 2017; Lopes et al., 2018).

Idealmente, o tratamento para HD deve promover oclusão tubular e resistência aos desafios erosivos e abrasivos, presentes na cavidade oral, em longo prazo (Öncü et al., 2017). Os resultados pós-ciclagem mostraram não haver diferenças entre os grupos, incluindo o controle, para %Lp e contagem de TDA. Dessa forma, nossa segunda hipótese nula foi aceita. Esses achados podem ser parcialmente explicados pelo resultado de %Lp do grupo controle, significativamente menor no tempo pós-ciclagem quando comparado ao tempo pós-tratamento. A ciclagem erosivo-abrasiva provavelmente causou a deposição de partículas abrasivas dos dentifrícios nos túbulos dentinários, levando à oclusão com uma camada de esfregaço e consequente redução da %Lp (Bezerra et al., 2019). Adicionalmente, o fluoreto presente na formulação do dentifrício pode ter contribuído para a oclusão tubular, indicando que a ausência entre os grupos pós-ciclagem pode ser atribuída aos resultados do G1. Como este efeito esteve igualmente presente em todos os grupos, não podemos considerar isso como um fator de confusão. Nas avaliações com MEV, G1 mostrou redução de TDA pós-ciclagem, com micrografias exibindo túbulos dentinários ocluídos, corroborando com os resultados de %Lp.

No G2, %Lp aumentou pós-ciclagem em comparação ao pós-tratamento, apesar de TDA não ter variado entre os dois momentos. Micrografias no pós-ciclagem mostram túbulos dentinários mais estreitos e alguns depósitos de cristais espalhados na superfície. A profundidade de obliteração do laser de Nd:YAG nos túbulos

dentinários parece ser de aproximadamente 4 μ m (Liu et al., 1997). O modelo de ciclagem utilizado em nosso estudo foi adaptado de Machado et al. (2019) e simula uma dieta com alto consumo de ácidos, quatro vezes ao dia, e dois desafios abrasivos, podendo causar uma perda superficial de 10 μ m. Assim, a ciclagem erosivo-abrasiva pode ter removido parte da superfície irradiada, causando reabertura dos túbulos dentinários e aumento da %Lp. A contagem de TDA pós-ciclagem não variou significativamente em comparação ao pós-tratamento, provavelmente por conta de algum efeito residual de *melting* e pela deposição de abrasivos dos dentifrícios, criando uma superfície de esfregaço fracamente aderida à superfície. Embora nosso estudo não tenha demonstrado o efeito em longo prazo do laser de Nd:YAG, estudos clínicos reportam a ação dessensibilizante do tratamento por períodos de 4 semanas até 6 meses de acompanhamento (Lopes; Aranha, 2013). O resultado clínico do laser de Nd:YAG também pode atribuído a um efeito analgésico adicional da irradiação, bem como mudanças provocadas nas terminações dos axônios sensoriais da polpa (Orchardson et al., 1998).

No G3, resultados pós-ciclagem de %Lp e TDA não diferiram dos valores obtidos pós-tratamento. A avaliação qualitativa das micrografias revelou túbulos parcialmente obliterados com uma intensa deposição de precipitados sobre a superfície dentinária. Estes resultados podem indicar que a associação de TD com o laser de Nd:YAG resistiu pós-ciclagem, embora não haja diferença do G1 nesse momento. As imagens obtidas por MEV, com túbulos parcialmente obliterados, estão relacionadas com a manutenção dos valores de %Lp pós-ciclagem. Os depósitos superficiais de cristais, visíveis pós-tratamento, foram removidos durante a ciclagem, mas os depósitos dentro dos túbulos dentinários foram capazes de resistir. Quando em contato com o meio aquoso criado na ciclagem, TTCP/DCPA residual liberaram fosfato de cálcio e geraram a precipitação de cristais semelhantes à fluorapatita, ação conjunta ao fluoreto do dentifrício, estreitando os túbulos dentinários. A contínua precipitação de cristais já foi demonstrada na literatura (Zhou et al., 2016).

Tem sido proposto que N-HA age através de dois mecanismos, causando deposição tubular diretamente e por gerar mineralização intratubular após reação com íons intraorais (Pei et al., 2019). Pós-ciclagem, G4 não apresentou alteração dos valores de %Lp e TDA em comparação ao pós-tratamento. Imagens de MEV mostram túbulos dentinários parcialmente ocluídos, com uma intensa deposição de uma camada de cristais. Embora este grupo não tenha diferido do G1 no pós-ciclagem,

estes achados sugerem que a associação de DNP com o laser de Nd:YAG resistiu parcialmente à ciclagem utilizada. A habilidade de N-HA em resistir a desafios erosivos foi descrita na literatura (Pei et al., 2019). Como a oclusão dos túbulos dentinários está diretamente relacionada com menores valores de permeabilidade dentinária, %Lp é condizente com os achados nas micrografias. G3 e G4 foram os únicos grupos que não mostraram diferenças significativas em %LP e TDA entre pós-tratamento e pós-ciclagem.

No G5, %Lp aumentou significativamente pós-ciclagem em comparação ao tempo pós-tratamento, mas sem diferenças significativas com o G1. Por outro lado, TDA não diferiu entre pós-tratamento e pós-ciclagem, e imagens de MEV mostram túbulos dentinários estreitados e formação de esfregaço. Podemos inferir a partir dos achados que, embora seja possível visualizar a oclusão tubular gerada, esse efeito não impediu o aumento da permeabilidade dentinária. Uma hipótese para essa aparente discrepância é de que os cristais e precipitados nos túbulos não estavam aderidos à superfície dentinária, portanto foram removidos pelo fluxo de água pressurizado durante a medição da permeabilidade dentinária. Estes resultados também corroboram com a literatura científica (Garofalo et al., 2018).

Todos os métodos utilizados neste estudo para avaliação dos efeitos dos agentes dessensibilizantes consideram uma pequena área dos espécimes, o que pode ser considerado uma limitação do estudo, já que pode gerar superestimação dos resultados, ou o contrário (João-Souza et al., 2018). Quando comparados aos dados do baseline (pós-EDTA), todos os tratamentos apresentaram redução significativa de %Lp e TDA pós-ciclagem. Os tratamentos foram realizados de acordo com as instruções fornecidas pelos fabricantes para garantir o total recobrimento das superfícies dentinárias. Entretanto, observações em MEV mostraram que a distribuição dos efeitos dos agentes foi heterogênea, evidenciando uma possível dificuldade na realização desses tratamentos para tratamento de exposições dentinárias. Os agentes utilizados neste estudo podem conter outros princípios ativos capazes de agir na HD, como o nitrato de potássio presente no Desensibilize Nano P (Wang et al., 2016) ou mesmo o efeito analgésico provocado pelo laser de Nd:YAG, que podem contribuir pro alívio de dor numa situação clínica. Como optamos por não avaliar as pastas de forma isolada, não é possível julgar se o *melting* gerado pelo laser tem algum efeito negativo nos efeitos das pastas. Todos estes aspectos devem ser considerados para não haver extrapolação dos resultados para o cenário clínico.

4.6 REFERÊNCIAS

Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. *J Clin Periodontol*. 1987 May;14(5):280-4. doi: 10.1111/j.1600-051x.1987.tb01533.x.

Andersson OH, Kangasniemi I. Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass in vitro. *J Biomed Mater Res*. 1991 Aug;25(8):1019-30. doi: 10.1002/jbm.820250808.

Berkathullah M, Farook MS, Mahmoud O. The Effectiveness of Remineralizing Agents on Dentinal Permeability. *Biomed Res Int*. 2018 Sep 12;2018:4072815. doi: 10.1155/2018/4072815.

Bezerra SJC, João-Souza SH, Aoki IV, Borges AB, Hara AT, Scaramucci T. Anti-Erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers. *Caries Res*. 2019;53(3):305-313. doi: 10.1159/000493388. Epub 2018 Oct 25.

Bezerra SJC, Trevisan LR, Viana IEL, Lopes RM, Pereira DL, Aranha ACC, Scaramucci T. Er,Cr:YSGG laser associated with acidulated phosphate fluoride gel (1.23% F) for prevention and control of dentin erosion progression. *Lasers Med Sci*. 2019 Apr;34(3):449-455. doi: 10.1007/s10103-018-2609-3. Epub 2018 Sep 13.

Brännström M, Aström A. The hydrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent J*. 1972 Jun;22(2):219-27. PMID: 4505631.

Canali GD, Rached RN, Mazur RF, Souza EM. Effect of Erosion/Abrasion Challenge on the Dentin Tubule Occlusion Using Different Desensitizing Agents. *Braz Dent J*. 2017 Mar-Apr;28(2):216-224. doi: 10.1590/0103-6440201700811.

Chow LC. Next generation calcium phosphate-based biomaterials. *Dent Mater J*. 2009 Jan;28(1):1-10. doi: 10.4012/dmj.28.1.

Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc*. 2003 Apr;69(4):221-6.

Cunha SR, Garófalo SA, Scaramucci T, Zezell DM, Aranha ACC. The association between Nd:YAG laser and desensitizing dentifrices for the treatment of dentin hypersensitivity. *Lasers Med Sci*. 2017 May;32(4):873-880. doi: 10.1007/s10103-017-2187-9. Epub 2017 Mar 14.

Dilsiz A, Aydin T, Canakci V, Gungormus M. Clinical evaluation of Er:YAG, Nd:YAG, and diode laser therapy for desensitization of teeth with gingival recession. *Photomed Laser Surg*. 2010 Oct;28 Suppl 2:S11-7. doi: 10.1089/pho.2009.2593. Epub 2010 Oct 8.

Farmakis ET, Kozyrakis K, Khabbaz MG, Schoop U, Beer F, Moritz A. In vitro evaluation of dentin tubule occlusion by Denshield and Neodymium-doped yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. *J Endod*. 2012 May;38(5):662-6. doi: 10.1016/j.joen.2012.01.019. Epub 2012 Mar 11.

Garofalo SA, Sakae LO, Machado AC, Cunha SR, Zezell DM, Scaramucci T, Aranha AC. In Vitro Effect of Innovative Desensitizing Agents on Dentin Tubule Occlusion and Erosive Wear. *Oper Dent*. 2019 Mar/Apr;44(2):168-177. doi: 10.2341/17-284-L. Epub 2018 Jun 28.

Gholami GA, Fekrazad R, Esmail-Nejad A, Kalhori KA. An evaluation of the occluding effects of Er;Cr:YSGG, Nd:YAG, CO₂ and diode lasers on dentinal tubules: a scanning electron microscope in vitro study. *Photomed Laser Surg*. 2011 Feb;29(2):115-21. doi: 10.1089/pho.2009.2628.

Gysi A. An attempt to explain the sensitiveness of dentine. *Br J Dent Sci*. 1900;43:865–8.

Hiller KA, Buchalla W, Grillmeier I, Neubauer C, Schmalz G. In vitro effects of hydroxyapatite containing toothpastes on dentin permeability after multiple applications and ageing. *Sci Rep*. 2018 Mar 20;8(1):4888. doi: 10.1038/s41598-018-22764-1.

João-Souza SH, Machado AC, Lopes RM, Zezell DM, Scaramucci T, Aranha ACC. Effectiveness and acid/tooth brushing resistance of in-office desensitizing treatments- A hydraulic conductance study. *Arch Oral Biol*. 2018 Dec;96:130-136. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.09.004. Epub 2018 Sep 12.

João-Souza SH, Scaramucci T, Hara AT, Aranha AC. Effect of Nd:YAG laser irradiation and fluoride application in the progression of dentin erosion in vitro. *Lasers Med Sci*. 2015 Dec;30(9):2273-9. doi: 10.1007/s10103-015-1802-x. Epub 2015 Sep 14.

Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.* 1997 Nov;23(11):691-3. doi: 10.1016/S0099-2399(97)80403-7.

Lopes AO, Aranha AC. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and a desensitizer agent on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. *Photomed Laser Surg.* 2013 Mar;31(3):132-8. doi: 10.1089/pho.2012.3386. Epub 2013 Feb 19.

Lopes RM, Scaramucci T, Aranha ACC. Effect of desensitizing toothpastes on dentin erosive wear and tubule occlusion. An in situ study. *Am J Dent.* 2018 Aug;31(4):177-183.

Machado AC, Rabelo FEM, Maximiano V, Lopes RM, Aranha ACC, Scaramucci T. Effect of in-office desensitizers containing calcium and phosphate on dentin permeability and tubule occlusion. *J Dent.* 2019 Jul;86:53-59. doi: 10.1016/j.jdent.2019.05.025. Epub 2019 May 22.

Maximiano V, Machado AC, Yoshida ML, Pannuti CM, Scaramucci T, Aranha ACC. Nd:YAG laser and calcium sodium phosphosilicate prophylaxis paste in the treatment of dentin hypersensitivity: a double-blind randomized clinical study. *Clin Oral Investig.* 2019 Aug;23(8):3331-3338. doi: 10.1007/s00784-018-2759-5. Epub 2018 Nov 30.

Öncü E, Karabekiroğlu S, Ünlü N. Effects of different desensitizers and lasers on dentine tubules: An in-vitro analysis. *Microsc Res Tech.* 2017 Jul;80(7):737-744. doi: 10.1002/jemt.22859. Epub 2017 Mar 2.

Orchardson R, Peacock JM, Whitters CJ. Effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on action potential conduction in nerve fibres inside teeth in vitro. *J Dent.* 1998 Jul-Aug;26(5-6):421-6. doi: 10.1016/s0300-5712(97)00037-7.

Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod.* 1986 Oct;12(10):465-74. doi: 10.1016/S0099-2399(86)80201-1.

Pei D, Meng Y, Li Y, Liu J, Lu Y. Influence of nano-hydroxyapatite containing desensitizing toothpastes on the sealing ability of dentinal tubules and bonding performance of self-etch adhesives. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019 Mar;91:38-44. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.11.021. Epub 2018 Nov 28.

Scaramucci T, Borges AB, Lippert F, Zero DT, Aoki IV, Hara AT. Anti-erosive properties of solutions containing fluoride and different film-forming agents. *J Dent.* 2015 Apr;43(4):458-65. doi: 10.1016/j.jdent.2015.01.007. Epub 2015 Jan 24.

Scaramucci T, Hara AT, Zero DT, Ferreira SS, Aoki IV, Sobral MA. In vitro evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives in enamel and dentine. *J Dent*. 2011 Dec;39(12):841-8. doi: 10.1016/j.jdent.2011.09.004. Epub 2011 Sep 16.

Suge T, Ishikawa K, Kawasaki A, Suzuki K, Matsuo T, Noiri Y, Imazato S, Ebisu S. Calcium phosphate precipitation method for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent*. 2002 Aug;15(4):220-6.

Suge T, Ishikawa K, Kawasaki A, Yoshiyama M, Asaoka K, Ebisu S. Effects of fluoride on the calcium phosphate precipitation method for dentinal tubule occlusion. *J Dent Res*. 1995 Apr;74(4):1079-85. doi: 10.1177/00220345950740040801.

Teixeira DNR, Zeola LF, Machado AC, Gomes RR, Souza PG, Mendes DC, Soares PV. Relationship between noncarious cervical lesions, cervical dentin hypersensitivity, gingival recession, and associated risk factors: A cross-sectional study. *J Dent*. 2018 Sep;76:93-97. doi: 10.1016/j.jdent.2018.06.017. Epub 2018 Jun 22.

Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttiporn T, Thitthaweerat S, Tagami J. Effect of a calcium-phosphate based desensitizer on dentin surface characteristics. *Dent Mater J*. 2013;32(4):615-21. doi: 10.4012/dmj.2013-073.

Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent*. 2011 Jun;39(6):430-7. doi: 10.1016/j.jdent.2011.03.008. Epub 2011 Apr 8.

Vandiver J, Dean D, Patel N, Bonfield W, Ortiz C. Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. *Biomaterials*. 2005 Jan;26(3):271-83. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.02.053.

Wang L, Magalhães AC, Francisconi-Dos-Rios LF, Calabria MP, Araújo D, Buzalaf M, Lauris J, Pereira JC. Treatment of Dentin Hypersensitivity Using Nano-Hydroxyapatite Pastes: A Randomized Three-Month Clinical Trial. *Oper Dent*. 2016 Jul-Aug;41(4):E93-E101. doi: 10.2341/15-145-C. Epub 2016 Feb 26.

Zhou J, Chiba A, Scheffel DL, Hebling J, Agee K, Niu LN, Tay FR, Pashley DH. Effects of a Dicalcium and Tetracalcium Phosphate-Based Desensitizer on In Vitro Dentin Permeability. *PLoS One*. 2016 Jun 30;11(6):e0158400. doi: 10.1371/journal.pone.0158400.

5 CAPÍTULO III

Ensaio clínico randomizado duplo-cego sobre a redução da hipersensibilidade dentinária com laser Nd:YAG e pasta profilática de fosfosilicato de cálcio e sódio a 15% durante seis meses

5.1 RESUMO

Objetivo: O estudo comparou o efeito dessensibilizante do laser de Nd:YAG (1064 nm) e uma pasta profilática de fosfosilicato de cálcio e sódio a 15% (CSP - NovaMin) no controle da dor da hipersensibilidade dentinária cervical (HDC) ao longo de 6 meses de acompanhamento. **Materiais e Métodos:** 67 pacientes com escore mínimo de dor 4, avaliados com uma escala visual analógica, foram selecionados e alocados aleatoriamente em um dos grupos: laser de Nd:YAG (100 mJ, 1W, 10 Hz, 85 J/cm²) ou pasta profilática de CSP. Os pacientes foram tratados em uma única seção e a dor foi avaliada imediatamente, 3 meses e 6 meses após os tratamentos. Quando mais de um dente apresentava HDC, um valor médio por paciente, foi considerado. Os pacientes eram cegos aos tratamentos e aos valores de dor, enquanto o operador desconhecia os dados de dor. **Resultados:** Os dados foram analisados quanto ao alívio da dor e valores absolutos. Não houve diferença no alívio de dor entre os tratamentos e tempos experimentais ($p > 0,05$). Os valores absolutos de dor mostraram redução significativa imediatamente após os tratamentos para ambos os grupos ($p < 0,05$). Após 6 meses, o nível de dor para o grupo laser Nd:YAG continuou a diminuir ($p < 0,05$), enquanto para o grupo CSP não mudou ($p > 0,05$). Para ambos os grupos, a dor foi menor após 6 meses em comparação com o *baseline*. **Conclusões:** Ambos os tratamentos foram eficientes na redução da HDC ao longo de 6 meses e o grupo laser de Nd:YAG apresentou os menores níveis de dor. **Relevância clínica:** O laser de Nd:YAG e a pasta profilática de CSP devem ser considerados como tratamentos eficazes para o controle da dor da HDC com efeitos positivos imediatos e de longo prazo.

5.2 INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária (HD) é uma condição comum entre a população em geral e ainda é considerada um desafio para os clínicos (Consensus-Based Recommendations For The Diagnosis And Management Of Dentin Hypersensitivity, 2003). Sua prevalência na literatura é heterogênea, variando drasticamente de acordo com a amostra populacional e a metodologia aplicada em cada estudo, com uma média de 33,5% (Favaro Zeola et al., 2019). A HD impacta negativamente na qualidade de vida dos pacientes, muitas vezes limitando as atividades diárias, como comer, falar e trabalhar (Bartold, 2006). Muitos pacientes vivem com HD por longos períodos, aumentando o risco para desenvolvimento de dor crônica, problemas emocionais e psicológicos (Lima et al., 2017). Uma vez que a condição é tratada com sucesso, observa-se que a qualidade de vida relacionada à saúde bucal pode ser melhorada (Douglas-De-Oliveira et al., 2018).

A HD tem sido descrita como uma dor breve causada por um estímulo externo sobre uma região de dentina exposta (Holland et al., 1997). A dor pode ser desencadeada por estímulos elétricos, térmicos, osmóticos, evaporativos ou táteis e não deve estar relacionada a microrganismos ou qualquer outra doença ou defeito dentário (Pashley, 1986). A hipersensibilidade dentinária cervical (HDC) está altamente associada a lesões não cáries e recessão gengival. Muitos fatores podem causar perda de tecidos dentários duros e/ou influenciar o desenvolvimento de danos periodontais e recessão gengival, como os mecanismos de erosão, abfração e atrição (Dilsiz et al., 2010; Grippo, 1991; Grippo et al., 2004; Lussi; Schaffner, 2000; Tugnait; Clerehugh, 2001).

No entanto, nem todos os locais de dentina exposta são sensíveis. Uma vez que os túbulos dentinários são obliterados, tanto pela formação de dentina terciária quanto pela formação de *smear layer* externa, os sintomas tendem a desaparecer. Em contraste, uma dentina hipersensível geralmente apresenta túbulos mais largos e em maior concentração (Rees; Addy, 2002; Yoshiyama et al., 1989). A etiologia da HDC é multifatorial e as vias de sinalização da dor relacionada ainda não foram completamente elucidadas (Liu et al., 2020). A teoria hidrodinâmica continua sendo a explicação mais aceita para a dor dentinária. Esta afirma que estímulos externos podem provocar o movimento do fluido dentinário que irá ativar mecanicamente as

fibras nervosas intimamente relacionadas às células odontoblásticas no tecido pulpar periférico (Brännström; Aström, 1972). No entanto, parece haver outros mecanismos desconhecidos sobre a dor relacionada à HDC, uma vez que a cobertura dos túbulos dentinários expostos nem sempre resulta em tratamentos eficazes (Liu et al., 2020).

Agentes dessensibilizantes são usados como parte do tratamento da HDC em duas estratégias principais: oclusão de túbulos dentinários e redução a permeabilidade dentinária ou bloqueio da transdução neural. Idealmente, os dessensibilizantes devem, entre outras características, apresentar resultados consistentes, ser de ação rápida, não irritantes, de fácil aplicação e apresentar efeitos de longa duração (Grossman, 1935). No entanto, essas características ainda não foram encontradas em um único agente. Os tratamentos atualmente disponíveis incluem vernizes, adesivos dentinários, materiais restauradores, nitratos, oxalatos, glutaraldeído, biovidro e lasers (Markowitz; Kim, 1992; Yonaga et al., 1999).

O fosfosilicato de sódio e cálcio (CSP) é um agente oclusivo comumente usado para o tratamento da HDC. CSP é um biovidro, comercialmente conhecido como NovaMin, encontrado em muitos produtos e em diferentes concentrações. CSP libera íons de cálcio e sódio que precipitam em meio aquoso, formando hidroxicarbonato apatita (HCA). A deposição mineral de HCA, muito semelhante à hidroxiapatita da dentina e esmalte, forma uma camada que bloqueia o lúmen dos túbulos dentinários. A capacidade do CSP em resistir aos desafios ácidos e abrasivos presentes no meio bucal ainda não está clara na literatura, principalmente quando consideradas as evidências de ensaios clínicos (Cunha et al., 2017; Maximiano et al., 2021; Zhu et al., 2015).

Os lasers têm sido utilizados no tratamento da HDC com diferentes objetivos: biomodulação das respostas celulares, gerando analgesia e indução da diferenciação celular (fotobiomodulação) ou alteração morfológica do tecido irradiado através de efeitos térmicos (lasers de alta potência) (Kimura et al., 2000). O laser de Nd:YAG apresenta comprimento de onda de 1064 nm e é efetivamente utilizado para promover a fusão e recristalização do esmalte e da dentina (Miglani et al., 2010). Quando utilizado adequadamente, o laser de Nd:YAG oblitera os túbulos dentinários e está bem indicado para o tratamento da HDC (Birang et al., 2007; Kimura et al., 2000). Estudos *in vitro* e clínicos demonstraram o potencial do laser de Nd:YAG na diminuição da permeabilidade dentinária e na redução dos sintomas da HDC (Cunha et al., 2017; Kara; Orbak, 2009; Lopes; Aranha, 2013). A eficácia dos lasers em

qualquer tratamento depende dos parâmetros utilizados, como dose, irradiância, tempo de irradiação e frequência. Muitos protocolos de irradiação foram testados na literatura para HDC, mas ainda não há consenso sobre o mais adequado.

Com base no cenário atual, o presente estudo teve como objetivo comparar os efeitos do laser de Nd:YAG (1064 nm) e uma pasta profilática contendo 15% CSP (NovaMin) no tratamento em consultório da HDC após uma única sessão de tratamento. Este estudo também comparou o efeito em longo prazo dos tratamentos por um período de 6 meses.

5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

5.3.1 Aspectos éticos

O presente estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinki (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008). Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, CEP-FOUSP (nº 2291636) (Anexo B). Após sua aprovação, o estudo foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (REBEC – Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos, nº U1111-1213-5135). Todos os pacientes foram atendidos no Laboratório Especial de Lasers em Odontologia (LELO) do Departamento de Dentística da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. O termo de consentimento livre e esclarecido e a ficha de anamnese estão disponíveis nos anexos C e D.

5.3.2 Design do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, paralelo e duplo-cego. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos com pelo menos um dente com sintomas de HDC, apresentando lesões cervicais não cariosas ou em estágio inicial de recessão

gingival. Um nível mínimo de dor de 4 cm foi definido como critério de inclusão, usando uma escala visual analógica (EVA). Os critérios de exclusão abrangeram outras condições não compatíveis com HDC, como lesões cariosas, trincas dentárias e doenças gengivais. Além disso, pacientes grávidas e lactantes não foram incluídas no estudo, assim como pacientes em uso contínuo de medicamentos anti-inflamatórios, analgésicos ou em tratamento ortodôntico. Também não foram incluídos pacientes com má higiene bucal, restaurações inadequadas ou perda de estrutura dentária compatível com indicação restauradora.

5.3.3 Intervenções

Todos os pacientes passaram por um período de *wash-out* de 1 semana, antes da realização dos tratamentos. Durante esse tempo, e ao longo do estudo, cada participante foi orientado a usar pastas de dente e enxaguantes convencionais, sem nenhum agente dessensibilizante. Os pacientes foram alocados aleatoriamente em um dos grupos experimentais, laser ou pasta profilática, e foram tratados pelo mesmo operador. Os pacientes do grupo laser foram tratados com o laser de neodímio, Nd:YAG - 1064 nm (Power Laser, Lares Research, São Clemente, CA, EUA, FAPESP nº 07/55497-0) com o seguinte protocolo: 4 irradiações de 15 seg cada (por dente) sobre a região cervical, com intervalo de 10 segundos entre as irradiações para relaxamento térmico; energia de 100 mJ, dose de 85 J/cm², taxa de repetição de 10 Hz, potência de 1 W, largura de pulso de 150 µs, utilizando fibra óptica de quartzo de 400 µm. As irradiações foram realizadas no modo de contato, escaneando a região cervical com a fibra perpendicular à superfície dentária. Antes de cada irradiação, a potência de saída foi confirmada usando um medidor de potência (Laser Check, MMOptics, São Carlos, São Paulo, Brasil). Durante as irradiações, tanto o operador quanto os pacientes usavam óculos de proteção.

A pasta profilática NUPRO contém 15% de fosfosilicato de cálcio e sódio em sua composição (NUPRO Extra Care powered by NovaMin, Dentsply professional, Carolina do Norte, EUA). De acordo com as instruções do fabricante, a pasta foi aplicada sobre a superfície dentária (região vestibulo-cervical) utilizando uma taça de borracha em baixa rotação. A pasta foi mantida em contato com os dentes por um

total de 60 segundos e depois foi lavada com água. Os pacientes foram orientados a bochechar com água após o tratamento.

5.3.4 Medição da dor

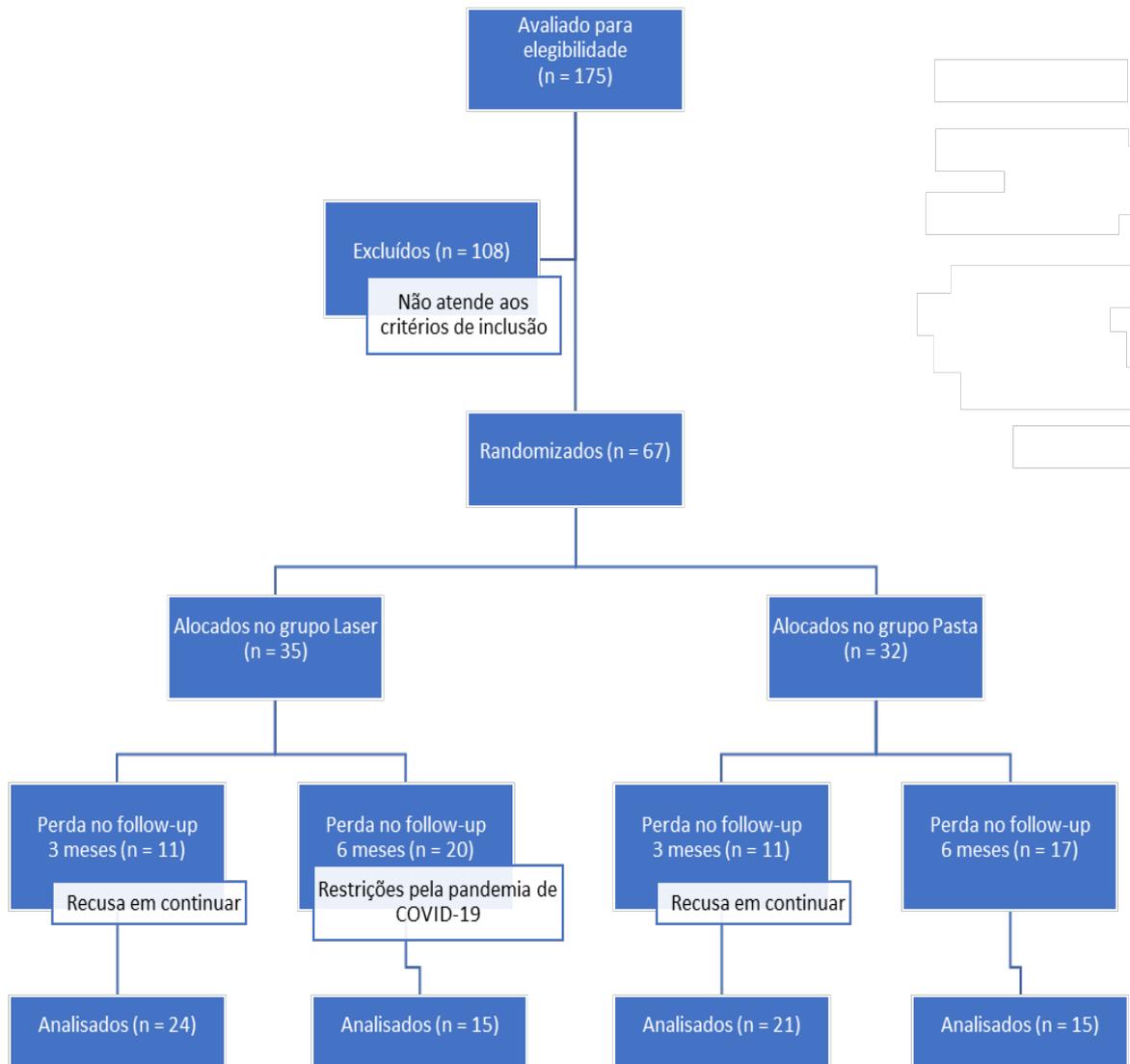
Cinco minutos após o tratamento, o operador saía da sala enquanto outro pesquisador, também cego ao tratamento, realizava a avaliação da dor com a EVA. Os pacientes foram instruídos a realizar uma marcação sobre qualquer ponto na linha de 10 cm. Nas extremidades da linha havia duas indicações: “sem dor”, à esquerda, e “dor insuportável”, à direita. O pesquisador então media a distância entre a extremidade esquerda da linha até a marca do paciente e a anotava o valor em centímetros, sem informar o paciente ou o operador, cegos para o resultado. Essa avaliação foi realizada para cada dente individualmente, e então uma média simples foi calculada para cada paciente. A avaliação da dor foi realizada antes do tratamento, 5 minutos, 3 meses e 6 meses após a realização dos tratamentos. Dois métodos diferentes foram escolhidos para provocar a dor: jato de ar e estímulos táteis. O estímulo evaporativo é realizado com um jato de ar aplicado sobre a região vestibular cervical do dente por 3 segundos a uma distância de aproximadamente 1 cm e pressão de 40 psi. Durante o teste evaporativo, os dentes adjacentes eram protegidos com isolamento relativo usando rolos de algodão. O segundo teste utilizado foi o tátil. As áreas cervicais vestibulares foram estimuladas pelo contato de uma sonda exploradora, passada várias vezes de mesial para distal sob pressão suave e constante.

5.3.5 Desfechos

A fim de determinar os efeitos dos tratamentos para HDC, os níveis de dor foram examinados. O nível de dor foi analisado usando o alívio médio da dor entre baseline e os intervalos de acompanhamento ou usando valores absolutos médios (avaliações pela EVA) após 6 meses. Ambos os métodos foram considerados no

estudo. Os dados foram analisados separadamente de acordo com os estímulos, jato de ar (evaporativo) ou sonda exploratória (tátil).

Figura 5.1 – *Flowchart* do estudo



Fonte: o autor.

5.3.6 Cálculo amostral e randomização

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado em uma diferença mínima esperada de 2 unidades entre os grupos em relação ao desfecho primário (ex: redução média da dor após 6 meses medida com EVA) considerando o estímulo evaporativo, e um desvio padrão de 2 unidades. Considerando nível de significância de 5% e poder do estudo de 80%, foram necessários 26 pacientes por grupo. Para compensar as perdas de seguimento, foram incluídos 25% a mais de pacientes, resultando em 33 pacientes por grupo.

Os pacientes foram alocados nos grupos experimentais de acordo com uma sequência aleatória, previamente realizada por um pesquisador independente, utilizando o programa Excel oferecido no pacote Microsoft Office. A randomização foi realizada em blocos de 2 e 4 e foi estratificada de acordo com o nível de dor. Dois estratos foram considerados durante a randomização: dor moderada, entre 4 e 6,9 cm, e dor intensa, entre 7 e 10 cm. O sigilo de alocação foi implementado pelo mesmo pesquisador independente, usando envelopes selados opacos e numerados sequencialmente. Cartões informando os tratamentos, de acordo com a sequência aleatória, foram colocados dentro dos envelopes. Os tratamentos foram codificados para que apenas o operador os conhecesse. Após a avaliação inicial da dor, o operador abria o respectivo envelope de acordo com os estratos (dor moderada ou intensa) e tratava o paciente de acordo. Em todos os momentos, os pacientes foram selecionados e tratados pelo mesmo operador.

5.3.7 Cegamento

Para garantir que os pacientes ficassem cegos aos tratamentos, o operador realizava a intervenção designada e simulava a outra. Os pacientes do grupo pasta foram tratados com o produto e a irradiação do laser foi simulada apenas com a luz guia acesa e sem emissão de energia. Os pacientes do grupo laser receberam as irradiações enquanto a aplicação da pasta foi simulada com uma taça de borracha e água sobre os dentes adjacentes, não incluídos no estudo. Os pacientes só puderam

saber qual tratamento receberam após o término do estudo. Portanto, os pacientes eram cegos para os tratamentos e não foram informados sobre os números da EVA. O operador desconhecia os níveis de dor após a intervenção, enquanto o pesquisador avaliador desconhecia os tratamentos designados.

5.3.8 Análise estatística

Para alívio da dor, foi utilizado o teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias e o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade. Como a homogeneidade foi encontrada, mas não a normalidade, o teste de Mann-Whitney foi realizado para verificar diferenças entre os grupos. Com relação às estimativas pontuais, a normalidade e a homocedasticidade foram atendidas tanto para os estímulos evaporativos quanto para os táteis. Assim, as diferenças entre os grupos e a mudança ao longo do tempo (fator de medidas repetidas) foram verificadas por meio da Análise de Variância dois fatores para medidas repetidas. O teste post hoc de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas. O nível de significância considerado foi de 5%.

5.4 RESULTADOS

Cento e setenta e cinco (175) pacientes foram triados de acordo com a presença de sintomas compatíveis com HDC e sessenta e sete (67) pacientes foram incluídos no estudo, totalizando 357 dentes. 85% dos pacientes eram do sexo feminino, 15% do sexo masculino, e a média de idade dos participantes foi de 37,5 anos. Os dados demográficos e os resultados clínicos no início do estudo são apresentados na tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Dados demográficos e desfechos clínicos em *baseline*

Desfecho	Grupo Nd:YAG n = 35	Grupo Novamin n = 32	Total n = 67
Gênero (Masculino:Feminino)	5:30	5:27	10:57
Idade (Anos)	38.5	36.6	37.5
Dentes (total)	201	156	357
IS (%)	13	8	21
II (%)	23	25	48
CS (%)	12	11	23
CI (%)	5	5	10
PMS (%)	48	38	86
PMI (%)	55	34	89
MS (%)	26	24	50
MI (%)	19	11	30
SD: ≤ 12 meses	-	-	17.5%
SD: 13 – 59 meses	-	-	27.5%
SD: ≥ 60 meses	-	-	55%
AM: Sim	-	-	34.28%
AM: Não	-	-	65.7%

Idade é apresentada como Média ± SD; IS: incisivos superiores; II: incisivos inferiores; CS: caninos superiores; CI: caninos inferiores; PMS: pré-molares superiores; PMI: pré-molares inferiores; MS: molares superiores; MI: molares inferiores; SD: Sintomas de Dor (%); AM: Automedicação (%).

Fonte: o autor.

5.4.1 Alívio de dor

Para esta análise, foi considerada a diferença entre as avaliações de dor iniciais (baseline) e posteriores (imediata, 3 meses e 6 meses). A dor é subjetiva para cada paciente e levar em consideração as diferenças individuais é uma alternativa para o cálculo do alívio da dor. As Tabelas 5.2 e 5.3 apresentam os resultados para estímulos evaporativo e tátil, respectivamente. Para ambos os métodos, os grupos Laser e Novamin não mostraram diferenças de alívio da dor entre nenhum dos intervalos de

tempo considerados ($p > 0,05$), assim como não houve diferenças entre os tratamentos em nenhum dos tempos ($p > 0,05$).

Tabela 5.2 – Alívio de dor – Estímulo evaporativo

Grupo	Intervalo	Média	Mediana	IIQ
Laser de Nd:YAG	Imediato	1.73 Aa	1.67	2.22
	3 meses	2.37 Aa	2.14	3.02
	6 meses	3.86 Aa	4.14	2.65
Novamin	Imediato	2.05 Aa	1.96	2.07
	3 meses	2.96 Aa	3.25	3.11
	6 meses	2.73 Aa	3.26	2.56

Letras maiúsculas diferentes mostram diferenças entre tempos dentro de cada grupo ($p < 0,05$), letras minúsculas diferentes mostram diferenças entre grupos dentro de cada tempo ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

Tabela 5.3 – Alívio de dor – Estímulo tátil

Grupo	Intervalo	Média	Mediana	IIQ
Laser de Nd:YAG	Imediato	0.43 Aa	0.02	0.51
	3 meses	0.39 Aa	0.0	0.31
	6 meses	0.91 Aa	0.1	1.3
Novamin	Imediato	0.63 Aa	0.12	1.02
	3 meses	0.8 Aa	0.58	1.36
	6 meses	-0.2 Aa	-0.03	1.09

Letras maiúsculas diferentes mostram diferenças entre tempos dentro de cada grupo ($p < 0,05$), letras minúsculas diferentes mostram diferenças entre grupos dentro de cada tempo ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

5.4.2 Dor após estímulos evaporativos – valores absolutos

A Tabela 5.4 apresenta os valores absolutos de dor após estímulos de jato de ar. Os dados mostram uma diminuição progressiva da dor após o tratamento com laser de Nd:YAG. No tempo imediato o nível de dor é menor em comparação ao baseline ($p < 0,05$). Após 3 meses, não houve diferença na dor em relação ao tempo imediato ($p > 0,05$), embora os dados também não tenham mostrado diferença em relação ao baseline ($p > 0,05$). Após 6 meses, a dor diminuiu ainda mais e diferiu significativamente dos tempos de acompanhamento anteriores, incluindo o baseline ($p < 0,05$).

Imediatamente após o tratamento com a pasta Novamin, a dor diminuiu quando comparada com os valores em baseline ($p < 0,05$). A dor permaneceu menor do que em baseline nos tempos de 3 e 6 meses ($p < 0,05$) e não diferiu do tempo imediato ($p > 0,05$). As comparações entre os grupos laser e pasta não mostraram diferenças nos níveis de dor ($p > 0,05$) em nenhum dos tempos experimentais.

Tabela 5.4 – Avaliação de dor – Estímulo evaporativo, valores absolutos

Grupo	Tempo	Média	DP	Mediana
Laser de Nd:YAG	Baseline	6.56 Aa	1.76	6.52
	Imediato	4.83 Ba	1.9	4.78
	3 meses	4.45 ABa	2.91	3.88
	6 meses	2.99 Ca	2.18	2.3
Novamin	Baseline	7.02 Aa	1.57	7.22
	Imediato	4.96 Ba	2.51	4.89
	3 meses	3.94 Ba	2.16	4.33
	6 meses	4.25 Ba	2.27	4.37

Letras maiúsculas diferentes mostram diferenças entre tempos dentro de cada grupo ($p < 0,05$), letras minúsculas diferentes mostram diferenças entre grupos dentro de cada tempo ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

5.4.3 Dor após estímulos táteis – valores absolutos

Os valores absolutos mostram uma tendência de diminuição da dor para ambos os grupos, laser de Nd:YAG e Novamin. No entanto, não houve diferenças intragrupo entre baseline e os tempos experimentais para ambos os grupos ($p > 0,05$). As comparações entre os grupos de tratamento, dentro de cada tempo, também não mostraram diferenças ($p > 0,05$) (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 – Avaliação de dor – Estímulo tátil, valores absolutos

Grupo	Avaliação	Média	DP	Mediana
Laser de Nd:YAG	Baseline	1.02 Aa	1.78	0.28
	Imediato	0.58 Aa	1.43	0.0
	3 meses	0.48 Aa	0.80	0.08
	6 meses	0.33 Aa	0.52	0.0
Novamin	Baseline	1.31 Aa	1.57	0.86
	Imediato	0.67 Aa	1.03	0.24
	3 meses	0.49 Aa	0.76	0.20
	6 meses	1.47 Aa	1.95	0.6

Letras maiúsculas diferentes mostram diferenças entre tempos dentro de cada grupo ($p < 0,05$), letras minúsculas diferentes mostram diferenças entre grupos dentro de cada tempo ($p < 0,05$).

Fonte: o autor.

5.5 DISCUSSÃO

O tratamento da HDC ainda é um desafio para o clínico, pois é uma condição multifatorial que possibilita diferentes estratégias para seu tratamento (Liu et al., 2020). Os efeitos duradouros das terapias dependem não apenas do controle da progressão da perda de estrutura dental e dos sintomas, mas também da escolha de um tratamento eficaz de conscientização do paciente portador da condição (Gillam,

2017). Uma das estratégias para o tratamento da HDC é o uso de agentes oclusivos que irão bloquear o lúmen dos túbulos dentinários, conseqüentemente impedindo a estimulação nervosa e diminuindo a dor (Berg et al., 2021). Nesta categoria, o laser de Nd:YAG é considerado, dentre outros lasers de alta potência, uma boa alternativa devido a sua capacidade em gerar fusão e ressolidificação de dentina (Cunha et al., 2017; Lopes, Aranha, 2013). O fosfosilicato de cálcio e sódio é outro agente oclusivo, patenteado e conhecido como Novamin, que tem sido efetivamente usado como uma opção de fácil utilização e acessível para o tratamento da HDC (Cunha et al., 2017; Zhu et al., 2015). O Novamin pode ser encontrado em diversos produtos, geralmente associado a cremes dentais ou pastas profiláticas. O presente estudo comparou essas duas opções quanto à capacidade de tratar os sintomas da HDC durante um período de 6 meses.

A HD deve ser diferenciada de outras condições dolorosas, como sensibilidade pós-operatória, cárie ou pulpíte. É definida como uma dor aguda, desencadeada por um estímulo externo, que cessa rapidamente após a retirada do estímulo (Holland et al., 1997). As mesmas características foram observadas nos pacientes deste estudo para decisão do diagnóstico. Nos casos em que a sensibilidade não pôde ser provocada com os estímulos evaporativos e táteis, ou quando a duração da dor se prolongou por mais tempo após os estímulos terem sido interrompidos, o operador investigou outras causas para os sintomas e o paciente não foi incluído no ensaio clínico. De acordo com os dados demográficos (Tabela 5.1), a relação homem:mulher foi de 10:57, com média de idade de 37,5 anos. Os dentes mais acometidos foram os pré-molares, seguidos dos molares superiores e incisivos inferiores. Estudos também mostram uma maior prevalência de HD em pré-molares em comparação com outros dentes (Gillam et al., 2013; Gillam, 2017; Liang et al., 2017). Além disso, a literatura também descreve um maior percentual de mulheres acometidas em relação a de homens (Liang et al., 2017), embora isto possa estar relacionado a diferenças culturais e à procura desigual por atendimento médico entre os gêneros. Porcentagens semelhantes foram encontradas por Fischer et al (1992) e Tabatabaei et al (2018). 55% dos pacientes incluídos neste estudo afirmaram que os sintomas começaram há mais de 5 anos antes do início do ensaio clínico e 34,28% do total faziam uso de algum tipo de automedicação, incluindo analgésicos ou dessensibilizantes, principalmente dentifrícios. De acordo com o *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity*, 50% dos clínicos não se sentem confiantes em tratar pacientes com HD (Consensus-

based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity, 2003). Os dados do presente estudo corroboram com a literatura e devem servir de alerta para os clínicos sobre a necessidade de oferecer um tratamento adequado e abrangente para os pacientes.

Este estudo foi delineado como um ensaio clínico randomizado duplo-cego e paralelo. Todos os pacientes eram cegos para o tratamento e para os valores numéricos da dor (EVA), enquanto o operador era cego para as avaliações de dor e o segundo pesquisador, avaliador, era cego para os tratamentos. Uma das limitações do estudo é o fato de os tratamentos utilizados serem muito diferentes entre si, dificultando o cegamento aos pacientes. Essa limitação foi controlada pelo operador, utilizando o tratamento real e simulando o outro, garantindo que o paciente continuasse cego. Além disso, a perda de pacientes durante os acompanhamentos foi outra limitação do estudo. O cálculo amostral levou em consideração uma perda esperada de 25%, que costuma ser suficiente para garantir um poder de estudo adequado. No entanto, durante a realização do estudo, restrições sanitárias envolvendo a pandemia de COVID-19 foram implementadas pelo governo e universidade, obrigando o estudo a ser encerrado prematuramente. Neste sentido, a perda de pacientes durante os tempos experimentais, principalmente após 6 meses, pode ter afetado o potencial dos testes em exibir diferenças estatísticas nas comparações realizadas. Devido a questões éticas, um grupo placebo-controle não pôde ser incluído para comparações em longo prazo. Nosso estudo anterior comparou os mesmos grupos, laser de Nd:YAG e pasta de CSP, com um grupo placebo por um período de 4 semanas. Durante este tempo, nenhuma diferença pôde ser observada entre o grupo controle e os tratamentos (Maximiano et al., 2018).

O objetivo primário deste estudo foi comparar a eficácia de uma única sessão de tratamento com laser de Nd:YAG e pasta profilática de CSP na redução dos sintomas da HDC. Este estudo mostrou que não houve diferença na redução da dor entre o laser de Nd:YAG e a pasta com Novamin após 3 e 6 meses. O alívio da dor foi calculado pela diferença entre o nível inicial e os intervalos de acompanhamento.

Embora não seja possível afirmar pelas estatísticas, pode-se observar uma linha de tendência para o grupo Nd:YAG (Tabela 5.2), que apresenta valores de alívio da dor ligeiramente maiores a cada seguimento, sugerindo um efeito adicional do laser ao longo do tempo. Além disso, quando comparados os valores absolutos de dor, é possível notar que imediatamente após a irradiação houve uma diminuição dos

valores médios de dor, atingindo o menor valor após 6 meses (estímulos evaporativos) (tabela 5.4). O laser de Nd:YAG (1064 nm), causa o *melting* (fusão) da dentina que resulta em uma superfície vitrificada (Cunha et al., 2017; Dilsiz et al., 2010). O efeito dessensibilizante dos lasers de Nd:YAG ainda não está totalmente esclarecido, e há a hipótese de que a irradiação pode atuar diretamente nas células neurais do tecido pulpar, gerando também analgesia através da fotobiomodulação (Myers; Mcdaniel, 1991; Orchardson et al., 1998). Além disso, o potencial dos lasers com comprimento de onda de 1064 nm na indução da diferenciação celular e produção de dentina terciária tem sido explorado na literatura. Portanto, o laser de Nd:YAG pode combinar tratamentos oclusivos e neurais em um só (Orchardson et al., 1998). Os parâmetros de irradiação usados neste estudo foram baseados na literatura atual (Cunha et al., 2017; Machado et al., 2019; Maximiano et al., 2018). O protocolo de irradiação tem papel fundamental nos resultados, uma vez que o uso incorreto do laser pode levar a efeitos colaterais insatisfatórios como fissuras e áreas carbonizadas, podendo gerar danos irreversíveis ao tecido pulpar (Fornaini et al., 2020; Lan et al., 2004; Srimaneepong et al., 2002).

A redução da dor obtida após o uso do laser de Nd:YAG é compatível com outros achados da literatura que avaliaram tanto a eficácia do laser quanto a longevidade dos seus efeitos. Comparações diretas entre estudos não são uma tarefa simples, devido à grande variabilidade de parâmetros e protocolos de irradiação comumente utilizados. Efeitos semelhantes aos achados em nosso estudo foram demonstrados por Dilsiz et al (2010) após 3 sessões de irradiação com laser Nd:YAG, com os níveis de dor aferidos pela EVA mais baixos e ainda evidentes após 60 dias (Dilsiz et al., 2010). Outro ensaio clínico utilizou o laser de Nd:YAG com 1W, modo pulsado a 10 Hz por 40 segundos, e demonstrou que após 3 sessões, o laser foi capaz de diminuir a HD por um período de 6 meses de acompanhamento (Tabatabaei et al., 2018). Em nosso estudo, uma única irradiação foi realizada e parece ter sido suficiente para reduzir a HD. De maneira semelhante, Aranha et al (2009) avaliaram níveis de dor menores após 6 meses em pacientes tratados com o laser de Nd:YAG (Aranha et al., 2009). As evidências mostram que protocolos semelhantes podem ser igualmente eficientes quando protocolos seguros são escolhidos.

Ambos os tratamentos utilizados em nosso estudo são considerados oclusivos, uma vez que estreitam ou fecham completamente os túbulos dentinários, diminuindo assim a permeabilidade dentinária e os sintomas da HD (Burwell et al., 2010; Machado

et al., 2019; Maximiano et al., 2021). O agente CSP é um vidro bioativo que libera íons cálcio e sódio quando em um ambiente aquoso (Andersson; Kangasniemi, 1991). Nesse processo, a hidroxicarbonato apatita (HCA) é formada e depositada sobre a superfície da dentina, bloqueando os túbulos e diminuindo o desencadeamento da sensação dolorosa (Milleman et al., 2012). O mineral HCA é quimicamente semelhante à hidroxiapatita dental e tem sido eficientemente utilizado na redução da HD (West et al., 2011). A Tabela 5.2 mostra os resultados do alívio da dor após uma única aplicação em consultório da pasta profilática com CSP. Os valores de alívio da dor se mantiveram os mesmos ao longo dos 6 meses, indicando que após a redução inicial da dor, o alívio se manteve no mesmo grau. Os dados da Tabela 5.4, com valores absolutos, corroboram com esses resultados, com queda dos valores médios de dor, após o tratamento, que não diferiram ao longo do tempo. Nos últimos 6 meses de avaliação, a pasta com CSP demonstrou ser eficaz em manter a dor abaixo dos níveis iniciais. Diferente dos resultados obtidos com o laser de Nd:YAG, não foi observada nenhuma tendência nas avaliações de dor para o grupo pasta (Tabela 5.4), sugerindo que uma vez que a redução da dor é alcançada com a formação de HCA sobre a dentina exposta, ela é mantida ao longo do tempo no mesmo nível, sem nenhum efeito adicional.

A literatura também sustenta o uso de Novamin para tratar a HD, tanto em cremes dentais quanto em pastas profiláticas (Zhu et al., 2015). O uso de cremes dentais contendo Novamin, geralmente com menores concentrações de CSP quando comparados aos produtos profissionais, pode ser indicado como um tratamento simples e eficiente, especialmente para múltiplos dentes com HD (Martens, 2013). O biovidro é composto por Si, Na, O, Ca, P e possui alta concentração de NaF (12.210 ppm F). O flúor é um ingrediente comum em produtos de higiene bucal e seu uso no tratamento da HD tem sido explorado. Os efeitos obliterantes da pasta CSP são imediatos (Cunha et al., 2017; West et al., 2011), o que corrobora com os resultados das avaliações de dor no presente estudo. As evidências para o uso de pastas profiláticas com CSP a 15% ainda são consideradas baixas (Zhu et al., 2015), embora os resultados deste estudo mostrem seus efeitos positivos na redução da dor.

Curiosamente, os dados de alívio da dor e os valores de dor absoluta não diferiram significativamente entre os tempos de acompanhamento nem entre os grupos experimentais em nenhum momento para estímulos táteis (Tabelas 5.3 e 5.5). Apesar de não significativo, o alívio de dor com o laser de Nd:YAG, após 6 meses, foi

superior ao alívio imediato (Tabela 5.5), onde o valor médio da dor em 6 meses é o menor para esse grupo. Para o CSP aconteceu o inverso, com o alívio de dor aos 6 meses negativo, sugerindo que neste tempo os sintomas eram mais elevados do que no *baseline*. Os dados obtidos a partir de cada estímulo são distintos, devido à natureza de cada teste. Os estímulos evaporativos são realizados com jato de ar sobre a região vestibular cervical de cada dente. O jato de ar é aplicado sobre toda a superfície vestibular, atingindo até mesmo áreas de dentina exposta que ainda não são visíveis clinicamente. Ao mesmo tempo, o jato de ar remove o calor da superfície dentária, evaporando o fluido dentinário e desencadeando a dor (Kleinberg et al., 1994). Já os estímulos táteis são realizados pela passagem da sonda exploradora sobre a região vestibular e cervical de cada dente sob leve pressão, semelhante à pressão utilizada para se escrever com uma caneta sobre papel. Observou-se durante o estudo que o teste tátil pode dar resultados negativos mesmo em pacientes com queixa de dor intensa, uma vez que a passagem da sonda pode não atingir pequenas áreas de dentina exposta, não visíveis clinicamente. Esses achados estão de acordo com a literatura, mostrando que o estímulo evaporativo pode detectar dentes sensíveis de forma até duas vezes mais eficiente do que o método tátil (Kleinberg et al., 1994).

A escala visual analógica é um dos métodos válidos para medição da intensidade da dor. Tem sido amplamente utilizado em diferentes cenários. O uso da EVA tem se mostrado mais preciso do que as escalas de avaliação verbal, produzindo menos interferência nos resultados (Thong et al., 2018). A EVA utilizada neste estudo consistia em um envelope com uma janela aberta na frente, exibindo uma linha vertical. Nas extremidades da janela havia duas indicações: sem dor (esquerda) e dor intensa (direita). Os pacientes foram orientados a deslizar o cartão interno do envelope para a direita, movendo a linha vertical, de acordo com a intensidade da dor. Do outro lado do envelope, não visível ao paciente, havia uma linha numerada de 100 mm, do mesmo tamanho da janela frontal do envelope. Com essas marcas, o pesquisador poderia anotar quantitativamente a intensidade da dor. Nenhum outro sinal estava visível para os pacientes, como ícones de emoções ou figuras, uma vez que esses sinais podem interferir nos resultados. A utilização de imagens pode influenciar a marcação pelo paciente. A utilização de um ícone triste, por exemplo, não apenas indica a intensidade da dor, mas também como ela afeta a qualidade de vida do paciente, o que não foi avaliado neste estudo (Thong et al., 2018).

É muito importante lembrar que a avaliação clínica e o diagnóstico eficazes devem ser bem conduzidos antes dos tratamentos dessensibilizantes, bem como a prevenção e o manejo dos mecanismos relacionados à HD junto ao paciente. Mudanças no estilo de vida e encaminhamentos para profissionais de outras áreas podem ser importantes.

Dentro das limitações deste ensaio clínico, após avaliação dos pacientes tratados com laser de Nd:YAG e pasta de CSP a 15%, pode-se concluir que ambos os tratamentos foram eficazes em diminuir os níveis de dor da hipersensibilidade dentinária cervical com tendência para o laser de 1064 nm em manter os níveis de dor inferiores aos valores basais por um período de 6 meses. Mais estudos em longo prazo devem ser conduzidos com laser de Nd:YAG e outros comprimentos de onda, também comparando protocolos e agentes dessensibilizantes, para demonstrar ainda mais sua eficácia na redução da HDC.

5.6 CONCLUSÕES

Dentro das limitações deste ensaio clínico randomizado duplo-cego, o laser de Nd:YAG e as pastas profiláticas contendo CSP a 15% são consideradas alternativas eficazes para o tratamento da HDC. O alívio da dor causado por ambos os produtos é semelhante e consistente ao longo do tempo. Com relação à longevidade dos efeitos, o grupo laser de Nd:YAG demonstrou manter os níveis de dor nos valores mais baixos quando comparado à pasta CSP.

5.7 REFERÊNCIAS

Andersson OH, Kangasniemi I. Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass in vitro. *J Biomed Mater Res.* 1991 Aug;25(8):1019-30. doi: 10.1002/jbm.820250808.

Aranha AC, Pimenta LA, Marchi GM. Clinical evaluation of desensitizing treatments for cervical dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res.* 2009 Jul-Sep;23(3):333-9. doi: 10.1590/s1806-83242009000300018.

Bartold PM. Dentinal hypersensitivity: a review. *Aust Dent J.* 2006 Sep;51(3):212-8; quiz 276.

Berg C, Unosson E, Engqvist H, Xia W. Comparative Study of Technologies for Tubule Occlusion and Treatment of Dentin Hypersensitivity. *J Funct Biomater.* 2021 Apr 27;12(2):27. doi: 10.3390/jfb12020027.

Birang R, Poursamimi J, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hypersensitivity treatment. *Lasers Med Sci.* 2007 Mar;22(1):21-4. doi: 10.1007/s10103-006-0412-z. Epub 2006 Nov 18.

Brännström M, Aström A. The hydrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent J.* 1972 Jun;22(2):219-27.

Burwell A, Jennings D, Muscle D, Greenspan DC. NovaMin and dentin hypersensitivity--in vitro evidence of efficacy. *J Clin Dent.* 2010;21(3):66-71.

Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.* 2003 Apr;69(4):221-6.

Cunha SR, Garófalo SA, Scaramucci T, Zezell DM, Aranha ACC. The association between Nd:YAG laser and desensitizing dentifrices for the treatment of dentin hypersensitivity. *Lasers Med Sci.* 2017 May;32(4):873-880. doi: 10.1007/s10103-017-2187-9. Epub 2017 Mar 14.

Dilsiz A, Aydin T, Canakci V, Gungormus M. Clinical evaluation of Er:YAG, Nd:YAG, and diode laser therapy for desensitization of teeth with gingival recession. *Photomed Laser Surg.* 2010 Oct;28 Suppl 2:S11-7. doi: 10.1089/pho.2009.2593. Epub 2010 Oct 8.

Douglas-de-Oliveira DW, Vitor GP, Silveira JO, Martins CC, Costa FO, Cota LOM. Effect of dentin hypersensitivity treatment on oral health related quality of life - A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2018 Apr;71:1-8. doi: 10.1016/j.jdent.2017.12.007. Epub 2017 Dec 17.

Favaro Zeola L, Soares PV, Cunha-Cruz J. Prevalence of dentin hypersensitivity: Systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2019 Feb;81:1-6. doi: 10.1016/j.jdent.2018.12.015. Epub 2019 Jan 11.

Fischer C, Fischer RG, Wennberg A. Prevalence and distribution of cervical dentine hypersensitivity in a population in Rio de Janeiro, Brazil. *J Dent.* 1992 Oct;20(5):272-6. doi: 10.1016/0300-5712(92)90043-c.

Fornaini C, Brulat-Bouchard N, Medioni E, Zhang S, Rocca JP, Merigo E. Nd:YAP laser in the treatment of dentinal hypersensitivity: An ex vivo study. *J Photochem Photobiol B.* 2020 Jan;203:111740. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111740. Epub 2019 Dec 13.

Gillam D, Chesters R, Attrill D, Brunton P, Slater M, Strand P, Whelton H, Bartlett D. Dentine hypersensitivity--guidelines for the management of a common oral health problem. *Dent Update.* 2013 Sep;40(7):514-6, 518-20, 523-4. doi: 10.12968/denu.2013.40.7.514.

Gillam DG. A New Perspective on Dentine Hypersensitivity – Guidelines for General Dental Practice. *Dent Update.* 2017 Jan;44(1):33--6, 39-42. doi: 10.12968/denu.2017.44.1.33.

Grippio JO. Abfractions: a new classification of hard tissue lesions of teeth. *J Esthet Dent.* 1991 Jan-Feb;3(1):14-9. doi: 10.1111/j.1708-8240.1991.tb00799.x.

Grippio JO, Simring M, Schreiner S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. *J Am Dent Assoc.* 2004 Aug;135(8):1109-18; quiz 1163-5. doi: 10.14219/jada.archive.2004.0369. Erratum in: *J Am Dent Assoc.* 2004 Oct;135(10):1376.

Grossman L. A systematic method for the treatment of hypersensitive dentin. *J Am Dent Assoc.* 1935:592–8.

Holland GR, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.* 1997 Nov;24(11):808-13. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb01194.x.

Kara C, Orbak R. Comparative evaluation of Nd:YAG laser and fluoride varnish for the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod.* 2009 Jul;35(7):971-4. doi: 10.1016/j.joen.2009.04.004.

Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol*. 2000 Oct;27(10):715-21. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027010715.x.

Kleinberg I, Kaufman HW, Wolff M. Measurement of tooth hypersensitivity and oral factors involved in its development. *Arch Oral Biol*. 1994;39 Suppl:63S-71S. doi: 10.1016/0003-9969(94)90190-2.

Lan WH, Lee BS, Liu HC, Lin CP. Morphologic study of Nd:YAG laser usage in treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod*. 2004 Mar;30(3):131-4. doi: 10.1097/00004770-200403000-00001.

Liang X, Wei Z, Hu D, Ruan J. Prevalence of dentin hypersensitivity among the residents of Xi'an city, China. *Acta Odontol Scand*. 2017 Aug;75(6):387-393. doi: 10.1080/00016357.2017.1323348. Epub 2017 May 13.

Lima TC, Vieira-Barbosa NM, Grasielle de Sá Azevedo C, de Matos FR, Douglas de Oliveira DW, de Oliveira ES, Ramos-Jorge ML, Gonçalves PF, Flecha OD. Oral Health-Related Quality of Life Before and After Treatment of Dentin Hypersensitivity With Cyanoacrylate and Laser. *J Periodontol*. 2017 Feb;88(2):166-172. doi: 10.1902/jop.2016.160216. Epub 2016 Oct 7.

Liu XX, Tenenbaum HC, Wilder RS, Quock R, Hewlett ER, Ren YF. Pathogenesis, diagnosis and management of dentin hypersensitivity: an evidence-based overview for dental practitioners. *BMC Oral Health*. 2020 Aug 6;20(1):220. doi: 10.1186/s12903-020-01199-z.

Lopes AO, Aranha AC. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and a desensitizer agent on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. *Photomed Laser Surg*. 2013 Mar;31(3):132-8. doi: 10.1089/pho.2012.3386. Epub 2013 Feb 19.

Lussi A, Schaffner M. Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Res*. 2000 Mar-Apr;34(2):182-7. doi: 10.1159/000016587.

Machado AC, Maximiano V, Eduardo CP, Azevedo LH, de Freitas PM, Aranha AC. Associative Protocol for Dentin Hypersensitivity Using Nd:YAG Laser and Desensitizing Agent in Teeth with Molar-Incisor Hypomineralization. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*. 2019 Apr;37(4):262-266. doi: 10.1089/photob.2018.4575.

Machado AC, Rabelo FEM, Maximiano V, Lopes RM, Aranha ACC, Scaramucci T. Effect of in-office desensitizers containing calcium and phosphate on dentin permeability and tubule occlusion. *J Dent.* 2019 Jul;86:53-59. doi: 10.1016/j.jdent.2019.05.025. Epub 2019 May 22.

Markowitz K, Kim S. The role of selected cations in the desensitization of intradental nerves. *Proc Finn Dent Soc.* 1992;88 Suppl 1:39-54.

Martens LC. A decision tree for the management of exposed cervical dentin (ECD) and dentin hypersensitivity (DHS). *Clin Oral Investig.* 2013 Mar;17 Suppl 1(Suppl 1):S77-83. doi: 10.1007/s00784-012-0898-7. Epub 2012 Dec 23.

Maximiano V, Machado AC, Lopes RM, Rabelo FEM, Garófalo SA, Zezell DM, Aranha ACC, Scaramucci T. Association of Nd:YAG laser and calcium-phosphate desensitizing pastes on dentin permeability and tubule occlusion. *J Appl Oral Sci.* 2021 Mar 31;29:e20200736. doi: 10.1590/1678-7757-2020-0736.

Maximiano V, Machado AC, Yoshida ML, Pannuti CM, Scaramucci T, Aranha ACC. Nd:YAG laser and calcium sodium phosphosilicate prophylaxis paste in the treatment of dentin hypersensitivity: a double-blind randomized clinical study. *Clin Oral Investig.* 2019 Aug;23(8):3331-3338. doi: 10.1007/s00784-018-2759-5. Epub 2018 Nov 30.

Miglani S, Aggarwal V, Ahuja B. Dentin hypersensitivity: Recent trends in management. *J Conserv Dent.* 2010 Oct;13(4):218-24. doi: 10.4103/0972-0707.73385.

Milleman JL, Milleman KR, Clark CE, Mongiello KA, Simonton TC, Proskin HM. NUPRO sensodyne prophylaxis paste with NovaMin for the treatment of dentin hypersensitivity: a 4-week clinical study. *Am J Dent.* 2012 Oct;25(5):262-8.

Myers TD, McDaniel JD. The pulsed Nd:YAG dental laser: review of clinical applications. *J Calif Dent Assoc.* 1991 Nov;19(11):25-30.

Orchardson R, Peacock JM, Whitters CJ. Effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on action potential conduction in nerve fibres inside teeth in vitro. *J Dent.* 1998 Jul-Aug;26(5-6):421-6. doi: 10.1016/s0300-5712(97)00037-7.

Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod.* 1986 Oct;12(10):465-74. doi: 10.1016/S0099-2399(86)80201-1

Rees JS, Addy M. A cross-sectional study of dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.* 2002 Nov;29(11):997-1003. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.291104.x.

Srimaneepong V., Palamara JEA., Wilson PR. Pulpal space pressure and temperature changes from Nd: YAG laser irradiation of dentin White star. *J Dent.* 2002;30(7-8):291-6. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(02\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(02)00023-4).

Tabatabaei MH, Chiniforush N, Hashemi G, Valizadeh S. Efficacy Comparison of Nd:YAG laser, diode laser and dentine bonding agent in dentine hypersensitivity reduction: a clinical trial. *Laser Ther.* 2018 Dec 31;27(4):265-270. doi: 10.5978/isism.27_18-OR-24.

Thong ISK, Jensen MP, Miró J, Tan G. The validity of pain intensity measures: what do the NRS, VAS, VRS, and FPS-R measure? *Scand J Pain.* 2018 Jan 26;18(1):99-107. doi: 10.1515/sjpain-2018-0012.

Tugnait A, Clerehugh V. Gingival recession-its significance and management. *J Dent.* 2001 Aug;29(6):381-94. doi: 10.1016/s0300-5712(01)00035-5.

West NX, Macdonald EL, Jones SB, Claydon NC, Hughes N, Jeffery P. Randomized in situ clinical study comparing the ability of two new desensitizing toothpaste technologies to occlude patent dentin tubules. *J Clin Dent.* 2011;22(3):82-9.

Yonaga K, Kimura Y, Matsumoto K. Treatment of cervical dentin hypersensitivity by various methods using pulsed Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1999 Oct;17(5):205-10. doi: 10.1089/clm.1999.17.205.

Yoshiyama M, Masada J, Uchida A, Ishida H. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin. *J Dent Res.* 1989 Nov;68(11):1498-502. doi: 10.1177/00220345890680110601.

Zhu M, Li J, Chen B, Mei L, Yao L, Tian J, Li H. The Effect of Calcium Sodium Phosphosilicate on Dentine Hypersensitivity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015 Nov 6;10(11):e0140176. doi: 10.1371/journal.pone.0140176.

7 DISCUSSÃO

O tratamento da HD inclui o diagnóstico diferencial, manejo dos mecanismos envolvidos na etiologia do desgaste dentai, como a erosão, tensão e fricção, controle da dor e a prevenção da progressão da condição (Gillam, 2017; Teixeira et al., 2018). A partir dessas etapas, o protocolo de dessensibilização pode ser indicado. Desde que a teoria hidrodinâmica foi proposta, diversos tratamentos foram desenvolvidos com o objetivo de vedar túbulos dentinários, diminuindo a permeabilidade da dentina e, conseqüentemente, a hipersensibilidade dentinária (Berg et al., 2021). A HD ainda é um quadro considerado desafiador pelos clínicos, que muitas vezes não se sentem seguros em diagnosticar e definir assertivamente o melhor plano de tratamento (Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity, 2003). Apesar da grande variedade de tratamentos disponíveis, ainda não existe um “padrão-ouro” para o protocolo dessensibilizante da HD, embora alguns agentes apresentem resultados muito promissores. Os lasers de alta potência e os agentes com fosfato de cálcio são duas opções categorizados, a princípio, como tratamentos obliteradores e a literatura traz muitos resultados positivos para a indicação dessas terapias (Aranha et al., 2005; Cunha et al., 2017; Zhu et al., 2015). A outra estratégia para dessensibilização é a neural, causando analgesia pela interação direta do agente com as fibras nervosas pulpares.

Os estudos reunidos nesta tese tiveram por objetivo avaliar os lasers de 1064 nm e diferentes produtos com fosfato de cálcio em três níveis: mecanismo de ação *in vitro* (capacidade da indução de respostas pulpares – Capítulo I; ensaio biomecânico – Capítulo II) e redução da dor clinicamente (estudo clínico - Capítulo III). Apesar do amplo uso dessas terapias, ainda não há informações suficientes na literatura que suportam a longevidade dos efeitos. A potencial ação da energia residual da irradiação sobre as células pulpares, que resultaria em produção de dentina terciária, também é uma hipótese que necessita de maiores evidências e, por essa razão, foi abordada em nossos trabalhos.

O laser de neodímio, Nd:YAG (1064 nm) é capaz de promover o aumento da temperatura superficial e, no processo, selar túbulos dentinários através do *melting* gerado. Dessa forma, os túbulos são estreitados ou completamente fechados com o próprio tecido dentinário (Cunha et al., 2017). O *melting* resultante da irradiação,

entretanto, não é homogêneo (Maximiano et al., capítulo II). A irradiação com o laser de Nd:YAG é realizada em modo de contato, com uma fibra óptica de 300 µm, em forma de varredura. Clinicamente, não é possível visualizar nenhuma alteração de forma ou de cor na dentina durante a irradiação, e, por isso, é comum que algumas regiões não sejam irradiadas. As regiões não irradiadas não apresentam alterações morfológicas e podem prejudicar a eficácia do tratamento como um todo (João-Souza et al., 2018). Por esse motivo, sugere-se que a irradiação seja feita em 4 varreduras separadas, alterando o sentido da irradiação, com intervalos entre cada varredura. Dessa forma, evita-se o sobreaquecimento do tecido e diminui as chances de áreas não tratadas. A partir dessas observações, propusemos que a associação de um agente obliterador adicional, utilizado após a irradiação, poderia aumentar a eficácia do tratamento como um todo. O protocolo associativo neste momento seria uma possibilidade interessante, ou seja, combinar agentes dessensibilizantes e a irradiação com laser de Nd:YAG pode apresentar resultados mais satisfatórios e prognósticos mais favoráveis. Os produtos com fosfato de cálcio que podem ser encontrados em pastas profiláticas, dentifrícios de uso caseiro e em produtos de aplicação profissional. Esses agentes liberam íons cálcio e fosfato que precipitam sobre a dentina e promovem a obliteração tubular (Cunha et al., 2017).

Os resultados de nosso estudo mostraram não haver efeito adicional na oclusão tubular e na diminuição da permeabilidade dentinária no protocolo associativo entre o laser de Nd:YAG e agentes com fosfato de cálcio (Maximiano et al., capítulo II). As imagens obtidas por microscopia de varredura ambiental mostraram que nenhum dos tratamentos geraram uma cobertura homogênea sobre a superfície dentinária, o que corrobora com os resultados obtidos na análise da permeabilidade. Apesar da oclusão tubular gerada após todos os tratamentos, nenhum foi capaz de resistir à ciclagem erosiva e abrasiva. Resultados similares já foram descritos e levantam o questionamento sobre a longevidade dos tratamentos no cenário clínico (Machado et al., 2019).

No sentido de avaliar a efetividade e duração dos efeitos da irradiação com o laser de Nd:YAG e de uma pasta contendo fosfosilicato de cálcio e sódio clinicamente, tratamentos testados em nosso ensaio biomecânico, conduzimos um estudo clínico randomizado e duplo-cego (Maximiano et al., capítulo III). Por questões de logística e viabilidade, a associação de tratamentos não foi testada, apenas a eficácia individual de cada tratamento. O estudo também não contou com um grupo controle placebo,

não autorizado pelo comitê de ética por conta do longo período de acompanhamento proposto de 6 meses. Este estudo é uma continuação de nossa pesquisa anterior, com 1 mês de acompanhamento clínico, que conta com os mesmos grupos tratamento e um grupo placebo (Maximiano et al., 2018). Nossos resultados anteriores mostraram que os dois tratamentos realizados foram capazes de reduzir significativamente a dor dos pacientes, e os níveis de dor foram mantidos pelo período de quatro semanas. Entretanto, não houve diferença entre os tratamentos e o grupo controle placebo.

O efeito placebo é comum em estudos clínicos sobre HD e podem estar associados a terapias que envolvem algum tipo de tecnologia identificada pelos participantes, neste caso, os lasers (Morris et al., 1999; West et al., 1997). As comparações em longo prazo (Maximiano et al., capítulo III) mostraram que os pacientes tratados ainda apresentavam níveis mais baixos de dor em relação aos valores iniciais, para ambos os grupos. Não houve diferença significativa entre os grupos, mostrando que tanto o laser de Nd:YAG quanto a pasta profilática com fosfosilicato de cálcio e sódio são terapias eficientes e capazes de resistir por um período de 6 meses de acompanhamento. Resultados semelhantes foram observados em outros estudos, corroborando com nossos achados (Aranha et al., 2009; Martens, 2013; Tabatabaei et al., 2018; Zhu et al., 2015). Estes resultados podem parecer conflitantes com os achados de nosso ensaio biomecânico (Maximiano et al., capítulo II), mas nem sempre é possível extrapolar os resultados de um estudo *in vitro*, controlado, para a realidade clínica que é complexa. Durante as consultas, todos os pacientes receberam instruções de higiene e informações sobre a prevenção do desgaste dental. Mudanças no estilo de vida e hábitos estão também relacionadas com a diminuição da progressão da HD e com a maior longevidade dos tratamentos, o que também poderia explicar os resultados do grupo placebo em nosso estudo anterior. Apesar de não significativo, foi possível observar uma tendência para o grupo tratado com o laser de Nd:YAG em manter os níveis de dor mais baixo do que o grupo pasta. A suposição é de que a irradiação poderia ter algum efeito adicional sobre o tecido pulpar que promoveu o efeito analgésico adicional (Myers; Mcdaniel, 1991; Orchardson et al., 1997).

Os efeitos da irradiação com o laser de diodo de 1064 nm, mesmo comprimento de onda do laser de Nd:YAG, foram avaliados em cultura de pré-odontoblastos MDPC-23. Optamos por realizar os ensaios para detecção da atividade da fosfatase alcalina, diferenciação celular, e avaliação com AlamarBlue, para viabilidade e proliferação

celular. O protocolo clínico utilizado no capítulo III foi testado sobre as culturas no capítulo I, e, para comparação, tratamos outros grupos com parâmetros decrescentes de potência e energia, até chegarmos nas doses convencionais de fotobiomodulação. Para a definição do protocolo de fotobiomodulação, utilizamos um trabalho anterior como referência, em que o laser de diodo de 810 nm foi utilizado com sucesso na diferenciação de pré-odontoblastos através da ativação da via do TGF- β (Arany et al., 2014). A comparação de protocolos entre os lasers de diferentes comprimentos de onda foi realizada a partir do novo conceito de fóton-fluência, também denominado Einstein (Young et al., 2022), que leva em consideração a fóton-energia específica de cada comprimento no cálculo da dosimetria. A forma de irradiação foi adaptada para que protocolos clínicos, com alta energia e efeitos fototérmicos, pudessem ser seguramente utilizados em culturas celulares. Para tanto, utilizamos um dispositivo 3D, impresso em resina, que fosse adaptado sobre as culturas e servisse de apoio para um disco de dentina humana de 1 mm. Dessa forma, o dispositivo funcionou como uma câmara pulpar artificial, com um teto de dentina sobre a qual as irradiações eram feitas. Essa metodologia foi adaptada de um estudo anterior (Diniz et al., 2015). Os resultados obtidos mostraram que a irradiação com o laser de 1064 nm era capaz de promover tanto a diferenciação celular, com aumento de ALP, quanto a proliferação celular.

O protocolo utilizado em nosso estudo (Maximiano et al., capítulo III) diferiu significativamente do grupo controle, sem tratamento. Esse resultado sugere que o tratamento da HD com o laser de 1064 nm é capaz de promover, além do *melting* dentinário, a indução da diferenciação de células odontoblásticas, que podem produzir dentina terciária, diminuindo a permeabilidade dentinária. A partir desses resultados, os protocolos testados podem ser considerados seguros e eficientes para o tratamento da HD.

Por todos os benefícios mostrados pelo compilado de nossos trabalhos *in vitro* e *in vivo*, e com base na literatura utilizada, o laser de 1064 nm e os agentes com fosfato de cálcio podem ser considerados eficientes no tratamento dessensibilizante da HD de forma imediata e em longo prazo, com os lasers apresentando a vantagem adicional de biomodulação do tecido pulpar.

8 CONCLUSÕES

Os estudos apresentados nesta compilação demonstraram que os lasers de 1064 nm, como o laser de Nd:YAG, e os agentes com fosfosilicato de cálcio são efetivos *in vitro* na promoção da oclusão tubular e redução imediata da permeabilidade dentinária. Após o estudo clínico, conclui-se que a redução da dor após a utilização destes agentes foi significativa e duradoura, pelo período avaliado de 6 meses. Em adição, o estudo com cultura celular evidenciou o potencial do laser de 1064 nm em promover a diferenciação de células odontoblásticas e a proliferação celular, contribuindo de forma direta no protocolo dessensibilizante. Os tratamentos apresentados são seguros, eficazes e devem ser considerados como parte do controle de dor da hipersensibilidade dentinária.

REFERÊNCIAS¹

Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity--the effect of toothbrushing and dietary compounds on dentine in vitro: an SEM study. *J Oral Rehabil.* 1992 Mar;19(2):101-10. doi: 10.1111/j.1365-2842.1992.tb01086.x.

Aranha AC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo Cde P. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: a preliminary in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2005 Oct;23(5):504-8. doi: 10.1089/pho.2005.23.504.

Aranha AC, Pimenta LA, Marchi GM. Clinical evaluation of desensitizing treatments for cervical dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res.* 2009 Jul-Sep;23(3):333-9. doi: 10.1590/s1806-83242009000300018.

Arany PR, Cho A, Hunt TD, Sidhu G, Shin K, Hahm E, Huang GX, Weaver J, Chen AC, Padwa BL, Hamblin MR, Barcellos-Hoff MH, Kulkarni AB, J Mooney D. Photoactivation of endogenous latent transforming growth factor- β 1 directs dental stem cell differentiation for regeneration. *Sci Transl Med.* 2014 May 28;6(238):238ra69. doi: 10.1126/scitranslmed.3008234.

Berg C, Unosson E, Engqvist H, Xia W. Comparative Study of Technologies for Tubule Occlusion and Treatment of Dentin Hypersensitivity. *J Funct Biomater.* 2021 Apr 27;12(2):27. doi: 10.3390/jfb12020027.

Berkathullah M, Farook MS, Mahmoud O. The Effectiveness of Remineralizing Agents on Dentinal Permeability. *Biomed Res Int.* 2018 Sep 12;2018:4072815. doi: 10.1155/2018/4072815.

Braennstroem M, Astroem A. A study on the mechanism of pain elicited from the dentin. *J Dent Res.* 1964 Jul-Aug;43:619-25. doi: 10.1177/00220345640430041601.

Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.* 2003 Apr;69(4):221-6.

¹ De acordo com Estilo Vancouver

Cunha SR, Garófalo SA, Scaramucci T, Zezell DM, Aranha ACC. The association between Nd:YAG laser and desensitizing dentifrices for the treatment of dentin hypersensitivity. *Lasers Med Sci.* 2017 May;32(4):873-880. doi: 10.1007/s10103-017-2187-9. Epub 2017 Mar 14.

Dilsiz A, Aydin T, Canakci V, Gungormus M. Clinical evaluation of Er:YAG, Nd:YAG, and diode laser therapy for desensitization of teeth with gingival recession. *Photomed Laser Surg.* 2010 Oct;28 Suppl 2:S11-7. doi: 10.1089/pho.2009.2593. Epub 2010 Oct 8.

Diniz IM, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MR, Marques MM. Antimicrobial photodynamic therapy: a promise candidate for caries lesions treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015 Sep;12(3):511-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2015.04.006. Epub 2015 May 19.

Favaro Zeola L, Soares PV, Cunha-Cruz J. Prevalence of dentin hypersensitivity: Systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2019 Feb;81:1-6. doi: 10.1016/j.jdent.2018.12.015. Epub 2019 Jan 11.

Ferreira AN, Silveira L, Genovese WJ, de Araújo VC, Frigo L, de Mesquita RA, Guedes E. Effect of GaAIs laser on reactional dentinogenesis induction in human teeth. *Photomed Laser Surg.* 2006 Jun;24(3):358-65. doi: 10.1089/pho.2006.24.358.

Gillam DG. A New Perspective on Dentine Hypersensitivity – Guidelines for General Dental Practice. *Dent Update.* 2017 Jan;44(1):33--6, 39-42. doi: 10.12968/denu.2017.44.1.33.

Grippio JO, Simring M, Schreiner S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. *J Am Dent Assoc.* 2004 Aug;135(8):1109-18; quiz 1163-5. doi: 10.14219/jada.archive.2004.0369. Erratum in: *J Am Dent Assoc.* 2004 Oct;135(10):1376.

Grossman L. A systematic method for the treatment of hypersensitive dentin. *J Am Dent Assoc.* 1935;592–8.

Holland GR, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.* 1997 Nov;24(11):808-13. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb01194.x.

João-Souza SH, Machado AC, Lopes RM, Zezell DM, Scaramucci T, Aranha ACC. Effectiveness and acid/tooth brushing resistance of in-office desensitizing treatments- A hydraulic conductance study. *Arch Oral Biol.* 2018 Dec;96:130-136. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.09.004. Epub 2018 Sep 12.

Kara C, Orbak R. Comparative evaluation of Nd:YAG laser and fluoride varnish for the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod.* 2009 Jul;35(7):971-4. doi: 10.1016/j.joen.2009.04.004.

Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol.* 2000 Oct;27(10):715-21. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027010715.x.

Lussi A, Schaffner M. Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Res.* 2000 Mar-Apr;34(2):182-7. doi: 10.1159/000016587.

Machado AC, Rabelo FEM, Maximiano V, Lopes RM, Aranha ACC, Scaramucci T. Effect of in-office desensitizers containing calcium and phosphate on dentin permeability and tubule occlusion. *J Dent.* 2019 Jul;86:53-59. doi: 10.1016/j.jdent.2019.05.025. Epub 2019 May 22.

Machado AC, Viana ÍEL, Farias-Neto AM, Braga MM, de Paula Eduardo C, de Freitas PM, Aranha ACC. Is photobiomodulation (PBM) effective for the treatment of dentin hypersensitivity? A systematic review. *Lasers Med Sci.* 2018 May;33(4):745-753. doi: 10.1007/s10103-017-2403-7. Epub 2017 Dec 5.

Martens LC. A decision tree for the management of exposed cervical dentin (ECD) and dentin hypersensitivity (DHS). *Clin Oral Investig.* 2013 Mar;17 Suppl 1(Suppl 1):S77-83. doi: 10.1007/s00784-012-0898-7. Epub 2012 Dec 23.

Maximiano V, Machado AC, Yoshida ML, Pannuti CM, Scaramucci T, Aranha ACC. Nd:YAG laser and calcium sodium phosphosilicate prophylaxis paste in the treatment of dentin hypersensitivity: a double-blind randomized clinical study. *Clin Oral Investig.* 2019 Aug;23(8):3331-3338. doi: 10.1007/s00784-018-2759-5. Epub 2018 Nov 30.

Morris MF, Davis RD, Richardson BW. Clinical efficacy of two dentin desensitizing agents. *Am J Dent.* 1999 Apr;12(2):72-6.

Myers TD, McDaniel JD. The pulsed Nd:YAG dental laser: review of clinical applications. *J Calif Dent Assoc.* 1991 Nov;19(11):25-30.

Orchardson R, Peacock JM, Whitters CJ. Effect of pulsed Nd:YAG laser radiation on action potential conduction in isolated mammalian spinal nerves. *Lasers Surg Med.* 1997;21(2):142-8. doi: 10.1002/(sici)1096-9101(1997)21:2<142::aid-lsm5>3.0.co;2-q.

Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod.* 1986 Oct;12(10):465-74. doi: 10.1016/S0099-2399(86)80201-1.

Rees JS, Addy M. A cross-sectional study of dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol.* 2002 Nov;29(11):997-1003. doi: 10.1034/j.1600-051x.2002.291104.x.

Suge T, Ishikawa K, Kawasaki A, Suzuki K, Matsuo T, Noiri Y, Imazato S, Ebisu S. Calcium phosphate precipitation method for the treatment of dentin hypersensitivity. *Am J Dent.* 2002 Aug;15(4):220-6.

Tabatabaei MH, Chiniforush N, Hashemi G, Valizadeh S. Efficacy Comparison of Nd:YAG laser, diode laser and dentine bonding agent in dentine hypersensitivity reduction: a clinical trial. *Laser Ther.* 2018 Dec 31;27(4):265-270. doi: 10.5978/islm.27_18-OR-24.

Teixeira DNR, Zeola LF, Machado AC, Gomes RR, Souza PG, Mendes DC, Soares PV. Relationship between noncarious cervical lesions, cervical dentin hypersensitivity, gingival recession, and associated risk factors: A cross-sectional study. *J Dent.* 2018 Sep;76:93-97. doi: 10.1016/j.jdent.2018.06.017. Epub 2018 Jun 22.

West NX, Addy M, Jackson RJ, Ridge DB. Dentine hypersensitivity and the placebo response. A comparison of the effect of strontium acetate, potassium nitrate and fluoride toothpastes. *J Clin Periodontol.* 1997 Apr;24(4):209-15. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb01833.x.

Yoshiyama M, Masada J, Uchida A, Ishida H. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin. *J Dent Res.* 1989 Nov;68(11):1498-502. doi: 10.1177/00220345890680110601.

Young NC, Maximiano V, Arany PR. Thermodynamic basis for comparative photobiomodulation dosing with multiple wavelengths to direct odontoblast differentiation. *J Biophotonics.* 2022 Jun;15(6):e202100398. doi: 10.1002/jbio.202100398. Epub 2022 Mar 3.

Zhu M, Li J, Chen B, Mei L, Yao L, Tian J, Li H. The Effect of Calcium Sodium Phosphosilicate on Dentin Hypersensitivity: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2015 Nov 6;10(11):e0140176. doi: 10.1371/journal.pone.0140176.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP (CAPÍTULO II)



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da efetividade de tratamentos dessensibilizantes de aplicação em consultório quanto à condutância hidráulica

Pesquisador: Alana Cristina Machado

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 78669417.6.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.340.539

Apresentação do Projeto:

Diversos materiais dessensibilizantes vêm sendo lançados no mercado atualmente, mas ainda não há um consenso sobre qual seria o mais efetivo para o tratamento da hipersensibilidade dentinária (HD), especialmente frente aos desafios erosivos e abrasivos frequentemente presentes no meio bucal. Sendo assim, o objetivo desse estudo é comparar a habilidade dos seguintes tratamentos de consultório, e algumas de suas associações, em relação a diminuição da permeabilidade dentinária: Clinpro White Varnish, Clinpro XT Varnish, Teethmate Desensitizer, Desensibilize Nano P, Duraphat, Nupro Prophylays paste, laser Nd:YAG, laser Nd:YAG + Teethmate Desensitizer, laser Nd:YAG + Desensibilize Nano P, laser Nd:YAG + Nupro e um grupo controle (o qual não receberá tratamento), imediatamente após a aplicação e após uma ciclagem erosiva-abrasiva. Serão utilizados espécimes de dentina coronária de 1mm de espessura, obtidos de molares humanos hígidos (n=10). Para simular a dentina hipersensível, os espécimes serão imersos em solução de EDTA (pH 7,4), por 5min. Na sequência, eles serão submetidos a uma ciclagem erosiva-abrasiva de 5 dias, consistindo de 5 min de imersão em solução de ácido cítrico (0,3%, pH~2,6), seguida por 60 min de exposição à saliva artificial, 4 vezes ao dia. A abrasão por escovação será realizada duas vezes ao dia, por 15s (totalizando 2min de exposição total a suspensão dentifício (convencional, com

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



Continuação do Parecer: 2.340.539

1450ppm F, como NaF/saliva, 30min após o primeiro e último desafios erosivos. A permeabilidade dentinária será avaliada por meio da condutância hidráulica após: a aplicação de EDTA (permeabilidade máxima), tratamentos e ciclagem. A porcentagem da permeabilidade em relação a permeabilidade máxima (%Lp) será calculada para cada grupo, nos tempos tratamento e ciclagem, e os dados serão analisados com o teste estatístico mais apropriado ($\alpha=0,05$).

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do presente estudo é comparar in vitro a ação dos seguintes tratamentos de consultório, e algumas de suas associações, em relação à diminuição da permeabilidade dentinária: Clinpro White Varnish (3M), Clinpro XT Varnish (3M), Teethmate Desensitizer (Kuraray), Desensibilize Nano P (FGM), Duraphat (Colgate), Nupro Prophylaxys paste (Sensodyne), Laser Nd:YAG, Laser Nd:YAG + Teethmate Desensitizer, Laser Nd:YAG + Desensibilize Nano P, Laser Nd:YAG + Nupro e de um grupo controle (sem tratamento), imediatamente após a aplicação e após uma ciclagem erosiva-abrasiva.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco Mínimo, pois o estudo é laboratorial com 110 dentes humanos do banco de dentes.

Benefícios - Tema relevante em função da grande prevalência de sensibilidade dentária na população.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto visa estudar um tema relevante devido a grande prevalência do problema na população. O estudo está bem desenhado e apresenta chance de obter resultados relevantes.

O documento TCLE.pdf anexado se refere a um experimento em dentes BOVINOS, parece ter havido um equívoco pois o projeto em questão será com 110 dentes humanos extraídos, como consta na carta de autorização do Banco de Tecidos da FOU SP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos exigidos pela Resolução CNS 466/12 foram anexados corretamente

1. Projeto Detalhado - OK
2. Folha de Rosto - OK
3. Autorização do Biobanco - OK

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



Continuação do Parecer: 2.340.539

Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendência.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1003890.pdf	06/10/2017 16:31:16		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOFERNANDACEP.docx	06/10/2017 16:30:30	Alana Cristina Machado	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO.pdf	06/10/2017 16:29:47	Alana Cristina Machado	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biobanco.pdf	04/10/2017 23:29:29	Alana Cristina Machado	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/10/2017 23:28:58	Alana Cristina Machado	Aceito

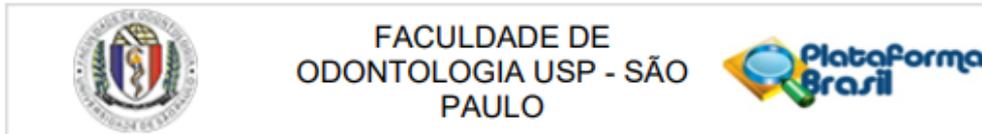
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br



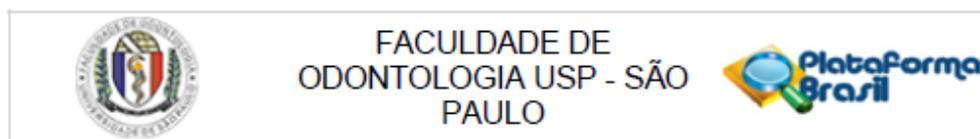
Continuação do Parecer: 2.340.539

SAO PAULO, 20 de Outubro de 2017

Assinado por:
Maria Gabriela Hays Blazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP (CAPÍTULO III)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Laser de Nd:YAG e pasta de carbonato de cálcio como tratamentos de consultório da hipersensibilidade dentinária. Estudo clínico duplo cego, longitudinal randomizado

Pesquisador: Vinícius Maximiano Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60788016.9.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.291.636

Apresentação do Projeto:

fosfosilicato de sódio cálcio. O presente trabalho será um estudo clínico paralelo, randomizado, duplo cego (ao sujeito e ao pesquisador que avaliará a dor), intervencional, a ser realizado num único centro, na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. A dor será avaliada com a escala análoga visual de dor (Visual Analogue Scale-VAS), após estímulo com ar da seringa tríplice, no momento do recrutamento (inicial), imediatamente após o tratamento (trat), 1 semana (1 sem) e 4 semanas (4 sem) após o tratamento. A intenção dos pesquisadores é continuar com a análise de dor após 3 e 6 meses da aplicação dos tratamentos, no entanto, entendemos que isso será um tempo em demasia para o grupo placebo, assim, após 4 semanas dos tratamentos iniciais, os voluntários do grupo placebo receberão tratamento com um produto específico para hipersensibilidade e não serão considerados nas análises futuras. Após o paciente reportar a presença de algum dente com HD, o profissional irá avaliar o dente sensível com o uso de ar frio da seringa tríplice (2 s de jato ar, com pressão de aproximadamente 40 psi, com a seringa direcionada

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



Continuação do Parecer: 2.291.636

perpendicularmente a superfície da lesão, a uma distância de aproximadamente 0,5 cm). Os dentes vizinhos serão protegidos com roletes de algodão ou com o os dedos do examinador. Na sequência, o voluntário terá que apontar na escala VAS (que varia desde 0=sem dor até 10=pior dor possível) o número inteiro, em cm, que melhor descreve a sua percepção de dor. Os dados serão armazenados em fichas apropriadas com a identificação de cada paciente. Para o estudo, os sujeitos serão aleatoriamente designados nos três grupos experimentais, a randomização será feita usando envelopes opacos estratificados de acordo com o valor obtido na escala VAS e em blocos de diferentes tamanhos amostrais. Brevemente, a média dos valores iniciais dos scores VAS será obtida para cada sujeito. Na sequência, estes serão aleatoriamente alocados nos grupos experimentais, assegurando valores similares de valores VAS iniciais entre os tratamentos. Será considerada na pesquisa a média de hipersensibilidade por sujeito, todos os dentes que apresentarem hipersensibilidade serão avaliados com a escala VAS e a média dos valores obtidos será o considerado como score final na escala. Todos os dentes com hipersensibilidade serão tratados e reavaliados considerando, da mesma forma, o cálculo da média entre eles para obter o score VAS final das reavaliações. Serão formados 3 grupos: placebo (controle), grupo da pasta de carbonato de cálcio e grupo do laser Nd:YAG. A determinação da HD será realizada por outro investigador, que permanecerá cego quanto aos tratamentos. Essa avaliação será realizada 15 min após a aplicação dos tratamentos. Na sequência, os voluntários serão chamados novamente para a determinação da sensibilidade após 1 semana e 1 mês dos tratamentos. Essas avaliações serão anotadas em folhas em branco, que indicarão somente o número do voluntário e o dente a ser analisado. Em relação ao estudo, espera-se que a determinação dos produtos com melhor desempenho contra a HD e durabilidade possa contribuir para uma melhor prática clínica, pois esta estará suportada por um maior grau de evidência, beneficiando, em última instância, o paciente.

Objetivo da Pesquisa:

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho será o de avaliar através de um estudo clínico

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



Continuação do Parecer: 2.291.636

randomizado e controlado a efetividade de um laser de alta potencia, Nd:YAG (1064nm), e pasta contendo fosfosilicato de sódio cálcio.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa não prevê riscos significativos, transitórios ou permanentes, para os voluntários da pesquisa, porém qualquer inconveniente ou desconforto que ocorra, ou para maiores esclarecimentos, os mesmos poderão procurar a pesquisadora responsável.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A presente emenda altera o projeto segundo as informações: "Por motivos técnicos, relacionados à falhas de equipamento, foi necessário alterar o laser utilizado na pesquisa."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos foram apresentados na primeira apreciação.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_950996 E1.pdf	12/09/2017 21:59:36		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacaolelo.pdf	11/09/2017 11:06:51	Vinicius Maximiano Silva	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostond.pdf	03/09/2017 12:00:00	Vinicius Maximiano Silva	Aceito
Projeto Detalhado	Projeto_CEP_2.doc	01/08/2017	Vinicius Maximiano	Aceito

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO



Continuação do Parecer: 2.291.636

/ Brochura Investigador	Projeto_CEP_2.doc	23:12:15	Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	01/08/2017 22:56:57	Vinicius Maximiano Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 22 de Setembro de 2017

Assinado por:
Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

ANEXO C (CAPÍTULO III)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Sr. (a),

Você está sendo convidado para participar, de forma **voluntária**, da pesquisa com o título **“Avaliação do laser de Nd:YAG e pasta de carbonato de cálcio como tratamentos de consultório da hipersensibilidade dentinária. Estudo clínico longitudinal randomizado”**, com o objetivo de avaliar tratamentos dessensibilizantes (alternativos aos convencionais, como uso de verniz e restaurações) para dentina exposta por retração da gengiva. A dentina exposta é causa de muita sensibilidade frente às bebidas geladas, alimentos doces ou ácidos ou mesmo durante a escovação e é causada por muitos fatores como cárie, muita força na escovação, uso de escovas com cerdas duras, doença periodontais, dieta ácida e interferências oclusais que causam maior esforço mastigatório, levando à perda das camadas superficiais dos dentes e consequente sensibilidade (hipersensibilidade dentinária).

Caso detectemos esta condição, o Sr.(a) será classificado, de forma aleatória, em um dos grupos representados por um método dessensibilizante diferente, também escolhidos ao acaso (uso de laser e uso de pasta dessensibilizante) e um grupo controle-placebo (sem tratamento), recebendo posteriormente, de forma **gratuita**, o tratamento respectivo ao grupo selecionado.

Sabe-se, através de outros estudos, que todos os métodos dessensibilizantes citados apresentaram bons resultados. Entretanto não sabemos qual a durabilidade dos mesmos após o início do tratamento. Assim, avaliaremos os participantes após o tratamento.

Os pesquisadores assumem o compromisso de fornecer **gratuitamente** tratamento com o agente que apresentar os melhores resultados nas 4 semanas iniciais da pesquisa para todos os participantes de pesquisa após a avaliação final respectiva de cada grupo.

Para que possamos obter resultados confiáveis é preciso que cada participante de pesquisa siga as seguintes recomendações:

- Deverão seguir as instruções de escovação fornecidas pelo pesquisador.
- Comparecer à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO) –Av. Lineu Prestes, 2227 Cid. Universitária - para a avaliação, assistência e entrega da pasta e escova de dentes nos dias e horários estipulados.
- Os participantes de pesquisa participarão da pesquisa em caráter **voluntário**, após explicação detalhada de todos os procedimentos a serem efetuados.
- O participante de pesquisa tem o direito de saber, caso deseje, a qual grupo pertence.

- **Em qualquer momento da pesquisa o participante de pesquisa poderá desistir e terá liberdade de recusar e retirar o consentimento sem qualquer penalização.**
- A identificação do participante de pesquisa será preservada pelos pesquisadores, bem como o **sigilo** de seus dados.
- Para a solução de quaisquer dúvidas ou esclarecimentos, bem como problemas, contatar a pesquisadora responsável (Profa. Dra. Ana Cecília Aranha) no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO) no telefone 3091-7645.

Os tratamentos utilizados neste estudo **não oferecem riscos ou danos** transitórios ou permanentes ao participante de pesquisa caso utilizados da forma correta. Durante o tratamento a laser, as normas e procedimentos internacionais de segurança e proteção serão rigorosamente seguidos.

Os participantes de pesquisa estarão se submetendo a um tratamento de **forma gratuita**.

A pesquisa não prevê **nenhum dano** para os participantes de pesquisa, porém qualquer inconveniente que ocorra ou para maiores esclarecimentos, os mesmos poderão procurar a pesquisadora responsável. A pesquisa prevê como **benefício** a remissão parcial ou total dos sintomas referentes à hipersensibilidade dentinária.

Os participantes de pesquisa serão acompanhados inicialmente após 1 semana, 1 mês, 3 meses e 6 meses após o tratamento dessensibilizante. Vale ressaltar que os participantes de pesquisa que estiverem no grupo controle serão avaliados após 1 semana e após 1 mês, quando então receberão o melhor tratamento identificado nesta pesquisa após as 4 semanas iniciais.

A qualquer momento os participantes de pesquisa poderão entrar em contato com os pesquisadores para possíveis esclarecimentos.

No caso de interrupção do estudo, o participante de pesquisa receberá a assistência que for adequada, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário.

Não está prevista qualquer forma de indenização, uma vez que o tratamento realizado não será invasivo e não oferecerá riscos permanentes ao participante de pesquisa.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (Av. Prof. Lineu Prestes, 2227, 05508-000 São Paulo ou pelo email: <http://www.fo.usp.br/portal/cep/>) Fone: (11) 3091.7960 – E-mail: cepfo@usp.br -Horário de funcionamento: segunda a sexta-feira das 8 às 17h (exceto feriados e recesso universitário). O Comitê é um colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. (Resolução CNS nº 466 de 2012).

Este documento se apresenta em 2 vias e ambas deverão ser assinadas, sendo que 1 via ficará de posse do participante de pesquisa.

Tendo lido o termo de consentimento acima, concordo em participar deste estudo.

São Paulo, _____ de _____ de 20 ____.

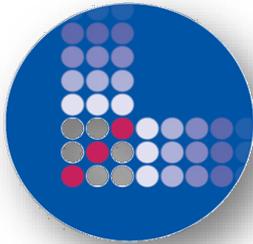
Participante da pesquisa

RG

Vinícius Maximiano Silva
Pesquisador responsável

Profa Dra Ana Cecília Corrêa Aranha
Pesquisador responsável

ANEXO D – FICHA DE ANAMNESE (CAPÍTULO III)

**Laboratório Especial de Laser em Odontologia****LELO- FOU SP**

Pesquisa - Hipersensibilidade Dentinária

Nome: _____
 Endereço: _____
 Bairro: _____ Cidade _____ Estado _____ Sexo Masc () Fem ()
 Email: _____
 CEP: _____ telefone: (____) _____ Celular(____) _____
 Data de nasc.: ____/____/____ Idade: _____ Estado Civil: _____
 Ocupação principal: _____ horários disponíveis: _____

ANAMNESE:

1. No momento está em tratamento médico? SIM () NÃO ()
Qual? _____
 2. Está tomando algum medicamento? SIM () NÃO ()
Qual? _____
 3. É alérgico a algum medicamento, produto ou ambiente? SIM () NÃO ()
Qual? _____
 4. Teve alguma doença séria nos últimos 3 anos? SIM () NÃO ()
Qual? _____
 5. Tem algum hábito? SIM () NÃO ()
Qual? FUMAR () BEBER ÁLCOOL () ROER UNHAS () RANGER DENTES () SUGAR DEDOS ()
MORDER OBJETOS ()
- Outros(): _____
6. Já realizou algum tratamento odontológico anteriormente? SIM () NÃO ()
Há quanto tempo desde a última vez? _____
Terminou o tratamento? SIM () NÃO ()
Passou por tratamento periodontal nos últimos meses? SIM () NÃO ()
Caso afirmativo, foi submetido à cirurgia periodontal? SIM () NÃO ()
 7. Costuma comer frutas e dietas ácidas /refrigerantes? SIM () NÃO ()
O quê /com qual freqüência? _____
 8. Já recebeu orientação sobre como escovar os dentes? SIM () NÃO ()
 9. Quantas vezes escova os dentes por dia? _____ Usa fio / fita dental? SIM () NÃO ()
 10. Quais as marcas da escova e pasta dentais? Escova: Macia () Média () Dura ()
Pasta : _____ Tem flúor na composição? SIM () NÃO ()
 11. Faz uso de colutórios / bochechos? SIM () NÃO ()
Qual a marca? _____ Tem flúor na composição? SIM () NÃO ()
 13. Usa outro meio de higiene bucal? SIM () NÃO () Qual? _____
 14. Queixas do paciente / Hipersensibilidade:
Há quanto tempo tem tido a dor? _____

Sabe qual/quais dente(s) é/são? _____

Dói quando toca nele(s)? SIM () NÃO ()

A dor ocorre somente após um estímulo (bebidas/alimentos quentes ou frios, doces ou algo mais)?

SIM () NÃO () o quê? _____

Descreva a dor: _____

Quanto ela o incomoda? _____

Tem tomado algo / passado algo para aliviar a dor? SIM () NÃO () o quê? _____

Caso afirmativo, alivia a dor? SIM () NÃO () Por quanto tempo? _____

Já passou por tratamento dessensibilizante? SIM () NÃO () Ajudou? SIM () NÃO ()

EXAME CLÍNICO:

1. Higiene bucal Satisfatória () Insatisfatória ()
2. Lesões / Dente / Diagnóstico/Tratamento

Observações
