

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

**FERNANDA YUKIE KOBAYASHI**

Avaliação dos níveis de dopamina salivar e eletromiografia antes e imediatamente depois da fotobiomodulação com LED infravermelho em crianças com bruxismo do sono.

**São Paulo, SP  
2019**

**FERNANDA YUKIE KOBAYASHI**

“Avaliação dos níveis de dopamina salivar e eletromiografia antes e imediatamente após a fotobiomodulação com LED infravermelho em crianças com bruxismo do sono.”

Tese apresentada à Universidade Nove de Julho para defesa do título de doutora em Biofotônica aplicada às Ciências da saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori

**São Paulo, SP**

**2019**

**Kobayashi, Fernanda Yukie.**

**Avaliação dos níveis de dopamina salivar e eletromiografia antes e imediatamente após da fotobiomodilação com LED infravermelho em crianças com bruxismo do sono. / Fernanda Yukie Kobayashi. 2019. 56 f.**

**Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2019.**

**Orientador (a): Profª. Drª. Sandra Kalil Bussadori.**

**1. Comprimento de onda. 2. Bruxismo infantil. 3. Tratamento. 4. Biomarcadores. 5. Salivares. 6. Eletromiografia.**

**I. Bussadori, Sandra Kalil.**

**II. Título.**

**CDU 615.831**

São Paulo, 04 de dezembro de 2019

**TERMO DE APROVAÇÃO**

Aluno (a): Fernanda Yukie Kobayashi

Título da Tese: "Avaliação dos níveis de dopamina salivar e eletromiografia antes e depois de fotobiomodulação com LED infravermelho como tratamento em crianças com bruxismo do sono"

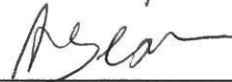
Presidente: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. SANDRA KALIL BUSSADORI



Membro: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. LARA JANSISKI MOTTA GODINHO



Membro: PROF. DR. ALESSANDRO MELO DEANA



Membro: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. SILVIA CRISTINA NUÑEZ



Membro: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. MARIA APARECIDA DE ANDRADE MOREIRA MACHADO



## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Nove de Julho pela oportunidade em cursar uma pós-graduação de qualidade reconhecida notadamente pelo MEC, e assim ter a oportunidade de aprender e conviver com mestres incríveis.

Agradeço à minha querida orientadora Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori por todo o acolhimento e apoio durante todos esses anos, por confiar e acreditar em mim para grandes projetos em todos os momentos.

Agradeço aos docentes da pós-graduação pelo conhecimento adquirido e ao auxílio do crescimento de cada aluno, principalmente levando em consideração o tamanho do curso e toda sua complexidade.

Agradeço à minha família e amigos pelo suporte nos momentos difíceis e pela ausência em outros, entendendo o quanto esse título é importante para o meu crescimento profissional. Em especial aos meus pais, Marcos e Marcia Kobayashi, minha irmã Letícia, meu tio Ricardo Asano e ao querido noivo Augusto Knijnik, companheiro de todas as aventuras.

Agradeço aos meus colegas da pós-graduação, porque juntos chegamos sempre mais longe.

Agradeço aos meus colegas da graduação da UNINOVE pelo apoio em diversos momentos ao longo do curso.

Agradeço aos antigos orientadores Prof. Dr. Fausto Berzin, Profa. Dra. Maria Beatriz Duarte Gavião e Profa. Dra. Paula Midori Castelo por toda a base acadêmica que me de deram e me sustenta até hoje.

## RESUMO

O bruxismo do sono, que é uma atividade muscular mastigatória durante o sono que é caracterizada como rítmica (fásica) ou não-rítmica (tônica) e não é um distúrbio de movimento ou um distúrbio do sono em indivíduos saudáveis. Ainda são escassas as alternativas em relação ao tratamento, além de muito controversas. Sabe-se que ainda o padrão-ouro é a placa rígida para bruxismo, mas há uma dificuldade tanto no acesso quanto no seu tratamento em crianças. A fotobiomodulação é uma alternativa para tratamento por não ser invasivo e mostrado bons resultados em problemas relacionados com tecidos musculares. A dopamina é um parâmetro sistêmico pouco explorado pela literatura. Se trata de um neurotransmissor responsável, entre outras situações, pelo controle do movimento dos muscular e distúrbios do sono e pode ser quantificado também pela saliva. Dessa forma, este estudo avaliou aspectos morfológicos locais, por meio da atividade muscular dos músculos da mastigação e dopamina salivar, para avaliar os aspectos sistêmicos da reposta imediata da fotobiomodulação com LED infravermelho, em crianças com o bruxismo do sono. Fizeram parte do estudo 30 crianças com faixa etária 6-8 anos, divididas aleatoriamente em três grupos: G1-pacientes sem bruxismo, G2-pacientes com bruxismo tratados com LED infravermelho, G3-pacientes com bruxismo tratados com placa rígida oclusal. Ambos os grupos passaram por avaliação inicial de eletromiografia dos músculos da mastigação e coleta salivar para investigação das concentrações de dopamina salivar. Após tratamento estatístico dos dados, foi possível observar que todos os tratamentos proporcionaram alterações significativas na atividade dos músculos da mastigação em repouso e mastigação. No entanto, na comparação entre os grupos, os tratamentos foram diferentes somente para a atividade EMG dos músculos mastigatórios coletados em repouso entre os grupos G2 (LED) e G3 (Placa). A concentração de dopamina salivar não diferiu imediatamente após o tratamento nos três grupos (G1, G2, G3). Também não foi observada diferença nas concentrações entre os grupos ( $p>0,05$ ). Dessa forma, conclui-se que a aplicação da fotobiomodulação com LED infravermelho obteve o mesmo efeito local na atividade muscular que a placa rígida oclusal, se tornando uma opção de baixo custo fácil aplicação e com efeitos similares ao padrão-ouro. Em relação aos níveis de dopamina salivar, os resultados não apresentaram diferenças entre os grupos.

**Palavras-chave:** Comprimento de onda, bruxismo infantil, tratamento, biomarcadores salivares, eletromiografia.

## ABSTRACT

Sleep bruxism, which is a chewing muscle activity during sleep that is characterized as rhythmic (phasic) or non-rhythmic (tonic) and is not a movement disorder or a sleep disorder in healthy individuals. They are still scarce as alternatives to treatment, and very controversial. He also knows that the gold standard is a rigid plate for bruxism, but there is difficulty in both access and treatment in children. Photobiomodulation is an alternative for non-invasive treatment and has shown good results in muscle tissue problems. Dopamine is a systemic parameter little explored in the literature. It treats a neurotransmitter responsible, among other things, for controlling muscle movement and sleep disorders and can be quantified also by saliva. Thus, this study evaluated local morphological aspects, through the muscular activity of the chewing and dopamine saliva muscles, to evaluate the systemic aspects of the immediate replacement of LED infrared photobiomodulation in children with bruxism or sleep. The study included 30 children aged 6 to 8 years, divided randomly into three groups: G1-patients without bruxism, G2-patients with bruxism used with LED infrared, G3-patients with bruxism used with rigid occlusal plate. Both groups evaluated the initial assessment of chewing muscle electromyography and salivary collection for investigation of salivary dopamine records. After statistical treatment of the data, it was possible to observe that all the effects provided altered the activity of the resting and chewing chewing muscles. However, in the comparison between groups, the controls were different only for the EMG activity of the masticatory muscles collected at rest between groups G2 (LED) and G3 (Plate). Salivary dopamine concentration did not differ after treatment in three groups (G1, G2, G3). There was also no difference between groups ( $p > 0.05$ ). Thus, it is concluded that the infrared LED photobiomodulation application is the same local effect of muscle activity as the rigid occlusal plate, using a low-cost option, easy application and gold-like effects. Regarding salivary dopamine levels, the results show no differences between groups.

**Keywords:** *Wavelength, childhood bruxism, treatment, salivary biomarkers, electromyography.*

## SUMÁRIO

Contextualização .....	8
Objetivos.....	11
Metodologia.....	11
<b>Estudo I</b>	
Delineamento.....	25
Casuística.....	27
Protocolo.....	28
Avaliações. ....	28
Análise estatística .....	29
<b>Estudo II</b>	
Delineamento.....	34
Casuística.....	36
Protocolo.....	36
Avaliações. ....	37
Análise estatística .....	38
Resultados.....	39
Considerações finais .....	48
Referências bibliográficas .....	48
Anexos .....	54



## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O consenso internacional de avaliação do bruxismo de 2018 definiu o conceito sobre bruxismo de duas formas: o bruxismo do sono, que é uma atividade muscular mastigatória durante o sono que é caracterizada como rítmica (fásica) ou não-rítmica (tônica) e não é um distúrbio de movimento ou um distúrbio do sono em indivíduos saudáveis. Já o bruxismo da vigília é uma atividade dos músculos mastigatórios caracterizada pelo contato repetitivo ou prolongado dos dentes e / ou pelo apertamento tanto da mandíbula quanto da maxila e não é um distúrbio do movimento em indivíduos saudáveis. Observe também que ambas as definições terminam com “em indivíduos saudáveis”, uma frase adicionada para sublinhar que embora na maioria das pessoas o bruxismo não seja um distúrbio, é um sinal de um distúrbio em alguns como por exemplo, em indivíduos com distúrbio de comportamento, apneia obstrutiva do sono, epilepsia, etc.

Além da nova definição, também foi colocado uma nova forma de classificação, sendo o bruxismo dividido em três grupos:

1) Não é fator de risco ou proteção: o bruxismo existe, ou seja, há atividade muscular dos músculos da mastigação em determinado período do dia, como comportamento inofensivo.

2) Um fator de risco: o bruxismo existe e é associado a um ou mais desfechos negativos à saúde. Exemplo: presença de disfunção temporomandibular.

3) Um fator de proteção: o bruxismo existe e é associado a um ou mais desfechos positivos à saúde. Ex. movimentos mandibulares no intuito de “desobstruir” as vias aéreas em quadros de apneia.

A etiologia do bruxismo é multifatorial, podendo ser de origem local, sistêmica, psicológica, ocupacional, hereditária ou ainda estar relacionada a distúrbios do sono e parassomias (Motta et al. 2014), sendo esse distúrbio amplamente associado com estresse e ansiedade (De Boever; Steenks 2015).

Embora a frequência do bruxismo na infância seja elevada, variando de 13 a 35,3%, e a presença desse distúrbio possa causar danos ao sistema estomatognático, existem poucos estudos na literatura que relatem quaisquer tratamentos durante esta fase (SERRA-NEGRA, 2010). Atualmente, a fisioterapia vem sendo utilizada no tratamento deste. Entre as técnicas fisioterapêuticas mais utilizadas estão: a estimulação neuromuscular transcutânea (TENS), estimulação neural elétrica por microcorrente (MENS), terapia de resfriamento (crioterapia), ultrassom, terapia de infravermelho, cinesioterapia, massoterapia e laser (Kato et al., 2006).

Por se tratar de um dos componentes da função mastigatória, a atividade dos músculos da mastigação tem valor importante no diagnóstico do bruxismo e vem sendo utilizado nos estudos por meio da eletromiografia, principalmente dos músculos masseter e temporal, parte anterior (Nish *et al.*, 2016). A atividade muscular durante o bruxismo foi avaliada na literatura por meio da eletromiografia dos músculos da mastigação (Okura *et al.*, 2016; Palinskas *et al.*, 2016). A maior parte dos estudos investigou os músculos masseter e temporal, parte anterior (Palinskas *et al.*, 2016; Alencar *et al.*, 2016). Entretanto, há poucos estudos devido à dificuldade na avaliação em idades mais precoces, pois há pouca espessura da musculatura e um comportamento não colaborador do paciente.

A dopamina é um neurotransmissor, da família das catecolaminas e feniletilaminas, e entre outras funções ela atua no controle de movimentos, aprendizado, humor, emoções, cognição e memória (Rodríguez Cerdeira *et al.*, 2017). Também é quantificada, por meio dos seus níveis salivares (Kang *et al.*, 2014). A alteração nos níveis de dopamina vem sendo relacionada a transtornos neuropsiquiátricos como Mal de Parkinson, no qual ocorre escassez na via dopaminérgica nigro-estriatal, e na esquizofrenia, ambas doenças que afetam a motricidade dos músculos (Kang *et al.*, 2014). Já existem estudos avaliando a concentração de dopamina nos fluidos salivares (Rodríguez Cerdeira *et al.*, 2017, Kang *et al.*, 2014). Entretanto, ainda não há estudos observando os níveis de concentração da dopamina em pacientes com bruxismo, apesar de também ser um problema que afeta a motricidade oral dos pacientes.

A influência do meio em que o indivíduo está inserido impacta diretamente nos reflexos do corpo do mesmo frente a um agente estressor. Todas as impressões relativas ao meio ambiente externo são processadas e avaliadas no nervoso central, mais precisamente no sistema límbico e o hipotálamo, os quais provocam emoções adequadas e estimulam o sistema nervoso simpático liberando adrenalina, que desencadeia as alterações do corpo como a respiração ofegante e os batimentos cardíacos, a tensão muscular superior, e um aumento do nível de açúcar e pressão arterial. Qualquer informação externa que provoca tal resposta pode ser reconhecida como um estressor (Yang *et al.*, 2012; Boone *et al.*, 2003). Os efeitos da supressão de emoções e atividades motoras sobrecarrega a função de um organismo resultando em várias doenças neuromusculares (Marker *et al.*, 2014).

Se não detectado em idades precoces, o bruxismo pode inconscientemente, envolver dentes pelo apertamento ou ranger. Este ato leva a lesão progressiva dos dentes e do periodonto, do dano da mucosa oral, aumento da tensão e a hipertrofia dos músculos mastigatórios, dores de cabeça crônicas e cervical dor, e anormalidade das articulações temporomandibulares como bem como problemas de audição (Murali *et al.*, 2015). Para

crianças de 8 a 10 anos, o desgaste causado pelo bruxismo não causa impacto na percepção da criança em relação à sua qualidade de vida (Klein, 2016). Apesar da importância de um diagnóstico precoce, tratamentos alternativos para o bruxismo ainda é pouco estabelecido.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Por envolver os músculos da mastigação, gerando consequências em estruturas dentais, é importante que medidas de controle e tratamento devem ser tomadas pelos profissionais.

Baseado na ênfase que se tem dado às medidas preventivas em relação às doenças e alterações que possam causar danos ao desenvolvimento fisiológico infantil, se torna necessário o empenho de profissionais no controle e tratamento de bruxismo em crianças, o uso de fotobiomodulação é indicado por promover efeito anti-inflamatório e analgésico (Marini et al., 2010).

A dosagem de biomarcadores salivar tem se tornado cada vez mais comum por ser de fácil utilização, manuseio e não ser invasivo (Gunnar; Donzella 2002).

## **3. OBJETIVOS**

### *3.1.- Geral*

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a atividade muscular e níveis de dopamina salivar, antes e depois da fotobiomodulação com LED em crianças com bruxismo do sono.

### *3.2 - Específico*

- Comparar a aplicação de LED e tratamento com placa oclusal considerada padrão-ouro.
- Avaliar se a atividade muscular por meio de eletromiografia antes e imediatamente após as terapias.
- Avaliar os níveis de dopamina salivar antes e imediatamente após as terapias.

## **4. METODOLOGIA**

Este estudo consistiu em um ensaio clínico, controlado, randomizado. Seguiu as normas regulamentadoras de pesquisa em seres humanos com submissão e aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Nove de Julho parecer de número 1.333.636 e CAAE 49730215.2.0000.5511. Clinical Trials: NCT03710174. Os participantes ou responsáveis assinaram o termo de assentimento e consentimento livre respectivamente, após esclarecimentos para autorização da participação na pesquisa (Anexo 1/ Anexo 2). Esses

indivíduos foram selecionados no ambulatório da Clínica Infantil da Universidade Nove de Julho e convidados a participar da pesquisa.

#### **4.1. Cálculo para determinar o tamanho da amostra**

Para este estudo foram avaliadas crianças de todos os sexos, matriculados regularmente na Clínica infantil da Universidade Nove de Julho SP. O cálculo da amostra baseado em estudo piloto prévio baseado em resultados de um estudo anterior que avaliou a diminuição de sinais e sintomas de pacientes com DTM muscular após terapia com placa oclusal (Restrepo et al., 2011). Considerando uma diferença média entre os tratamentos igual a 2 (DP = 2), 3 grupos, poder do teste de 80% e um nível alfa de 0,05, o mínimo de 10 indivíduos deve ser incluído em cada grupo.

#### **4.2. Sujeitos da Pesquisa**

##### *4.2.1. Critérios de exclusão*

Foram excluídos desta pesquisa, sujeitos que faziam uso de medicamentos miorelaxantes, que apresentassem disfunção temporomandibular e que realizassem outra terapia para bruxismo, que não a da pesquisa.

##### *4.2.2. Critérios de Inclusão*

Foram incluídos no estudo crianças de 6 a 8 anos sem limitações físicas ou psíquicas que poderiam comprometer a realização da terapia, de ambos os sexos sem distinção de raça e que apresentem os 1<sup>os</sup> molares em Classe I de Angle com ausência de lesões de cárie.

O critério clínico de desgaste dental e o questionamento aos pais ou responsáveis foram utilizados para o diagnóstico do bruxismo nos participantes. Foram consideradas bruxistas as crianças que apresentarem: indicação por parte dos pais da ocorrência de apertamento ou ranger os dentes, desgaste incisal e/ou oclusal dos elementos dentais, seguindo os critérios da American Academy of Sleep Medicine (AASM)<sup>1</sup>. Foram avaliadas 60 crianças de ambos os gêneros que frequentavam a clínica infantil da UNINOVE, após os critérios de inclusão estabelecidos selecionamos para o estudo 30 crianças com faixa etária 6 a 8 anos sem limitações físicas ou psíquicas que poderiam comprometer a realização da terapia, de ambos os sexos sem distinção de raça e que apresentassem os 1<sup>os</sup> molares em Classe I de Angle com ausência de lesões de cárie. O critério clínico de desgaste dental e o questionamento aos pais ou responsáveis foram utilizados para o diagnóstico do bruxismo nos participantes.

Foram considerados pacientes com bruxismo as crianças que apresentaram: indicação por parte dos pais da ocorrência de apertamento ou ranger os dentes, desgaste incisal e/ou oclusal dos elementos dentais, seguindo os critérios da American Academy of Sleep Medicine (AASM)<sup>1</sup>.

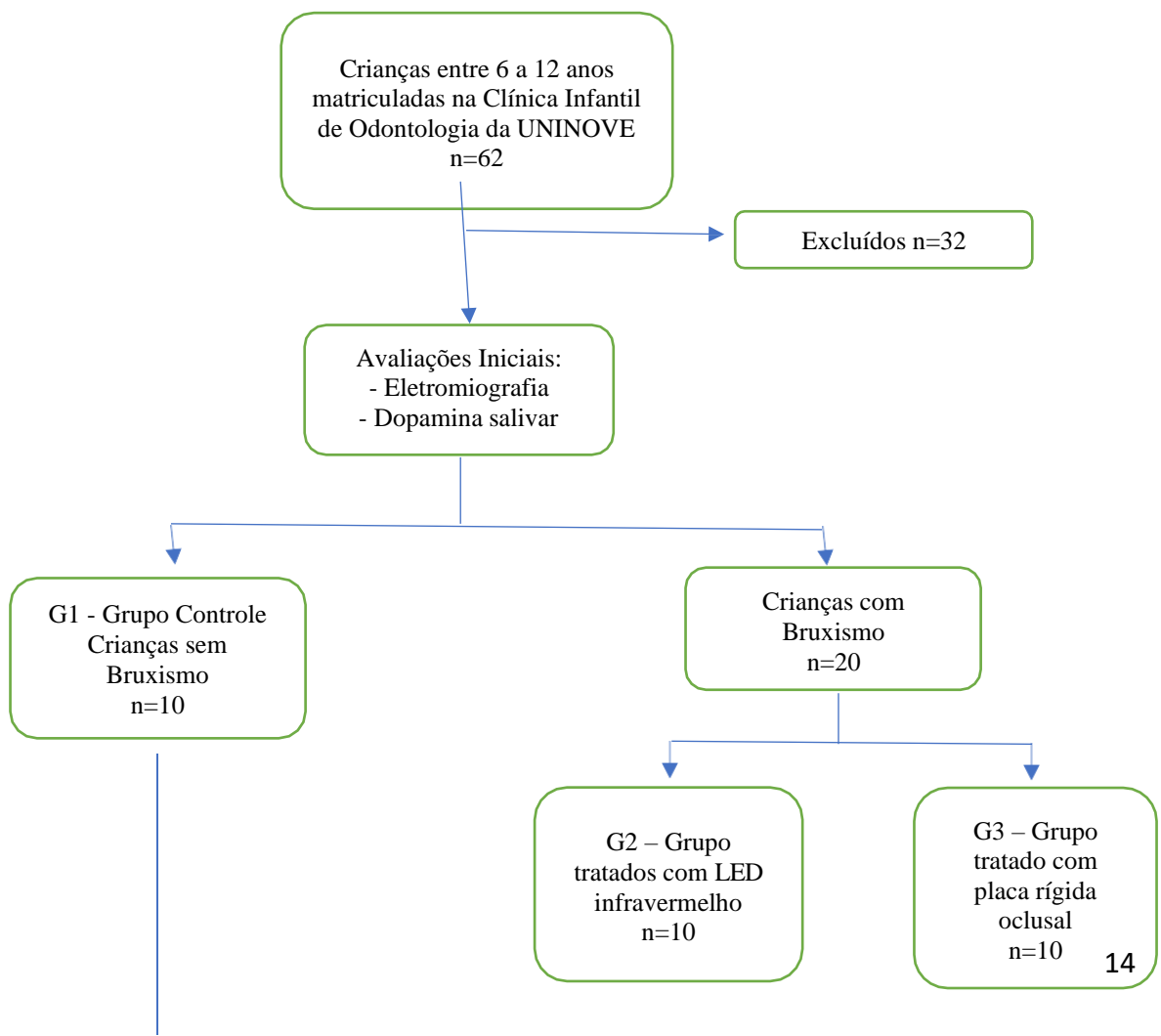
Os sujeitos selecionados foram divididos em 3 grupos, conforme descrito no quadro 1. Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação da eletromiografia e avaliação dos níveis de dopamina salivar, antes e após a intervenção terapêutica. A randomização foi realizada usando o Microsoft Excel (versão 2013). A randomização foi realizada em bloco (grupos de três pacientes). Trinta envelopes opacos foram identificados com números sequenciais (1 a 30) e cada um continha informações sobre o grupo correspondente seguindo a ordem aleatória estabelecida. Os envelopes permaneceram selados até o momento do tratamento.

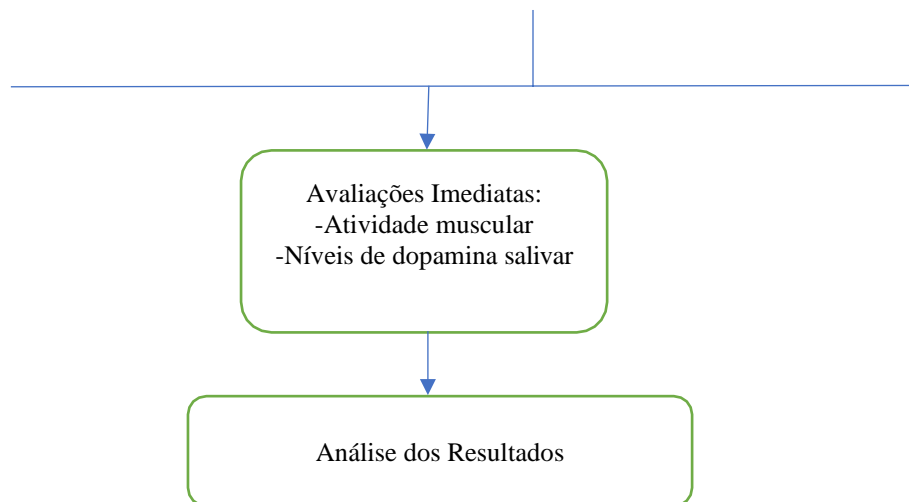
Quadro 1: Resumo da condição experimental

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Intervenção Terapêutica</b>
<b>1</b>	10	Pacientes sem bruxismo
<b>2</b>	10	Pacientes com bruxismo tratados com LED infravermelho
<b>3</b>	10	Pacientes com bruxismo tratados com placa rígida oclusal

Por se tratar de um estudo clínico controlado e buscando uma maior transparência e qualidade dessa pesquisa, foi utilizado neste estudo as recomendações CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) (Figura 1).

Figura 1: Fluxograma CONSORT

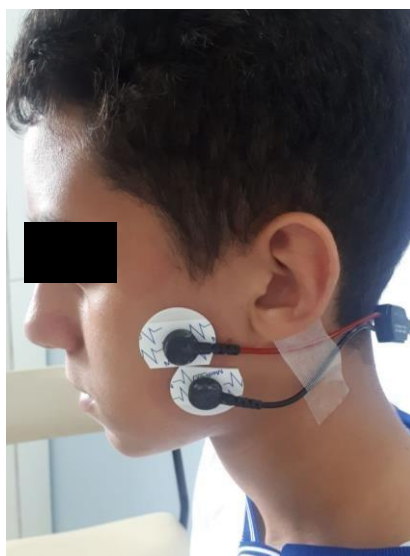




### 4.3 Protocolo de avaliação da atividade muscular

As atividades elétricas resultantes da ativação dos músculos masseteres e temporais foram coletadas, por meio do eletromiógrafo BTS TMJOINT da BTS Engineering com 6 canais contendo amplificador de sinais bioelétricos, de eletrodos bipolares de superfície descartáveis (Ag/AgCl - Medical Trace®) com 10mm de diâmetro, posicionados como ilustra a figura 2. O

Figura 2: Posicionamento da EMG do m. masseter.



sinal do EMG será amplificado com um ganho de 2000 vezes e filtrado dentro de uma frequência de 20-450 Hz. A impedância e o modo de rejeição comum do equipamento são 1015  $\Omega$ /0.2 pF e 60/10Hz 92 dB.

Os dados serão coletados e digitalizados em 1000 quadros/segundo usando software BTS MYOLA® 52. Para a captação do sinal EMG, foram utilizados eletrodos de superfície descartáveis autoadesivos e do tipo Ag/AgCl (Medical Trace), com diâmetro de 10 mm, fixados no ventre muscular na região que apresentou maior tônus, após o voluntário realizar moderada intercuspidação dental.

Os eletrodos foram fixados após limpeza com álcool 70%, para diminuir a impedância entre a pele e os eletrodos [39]. A distância inter-eletrodos era de 20 mm entre os centros, como sugerido pela SENIAM (Society European Recommendations for Surface Electromyography) [39]. Como referência, foi utilizado um eletrodo no punho esquerdo dos voluntários para impedir o efeito de interferência de ruídos externos. Os músculos analisados com a EMG de superfície foram o masseter (direito e esquerdo) e temporal feixe anterior (direito e esquerdo).

As avaliações ocorreram em quatro situações: i) em repouso, ii) máxima intercuspidação habitual utilizando-se uma lâmina de Parafilm M® [40] entre os dentes molares para que seja coletada a contração voluntária máxima (CVM) dos músculos estudados, iii) mastigação habitual (isotonia), iv) máxima intercuspidação (isometria) sem parafilm.

Para todas as coletas foram realizadas três repetições com intervalo entre as coletas de 2 minutos. O tempo de coleta para cada condição era de 15 segundos para o repouso, 5 segundos para a CVM e de 10 segundos para as condições de isometria e isotonia [48,53].

O sinal EMG coletado durante a mastigação foi retificado e normalizado pela média do sinal seguido pelo cálculo do RMS (root mean square) por meio de uma janela móvel de 500 rms sem sobreposição. Os dados foram normalizados pelo maior valor (RMS) obtidos na CVM. A amplitude do sinal EMG foi determinada a partir da raiz quadrada da média do sinal EMG (RMS), expressa em  $\mu$ V.

Os sinais obtidos nas condições de máxima intercuspidação habitual, isotonia e de repouso, foram normalizados pelo RMS de maior valor obtido durante as três CVM ( $\mu$ mV /  $\mu$ V x 100: % CVM). Para os sinais obtidos em isotonia e repouso mandibular, o RMS foi calculado para o total de 15s do sinal coletado. Já os dados referentes à MIH, inicialmente, o primeiro e o último segundo do sinal EMG bruto foi descartado e o RMS foi calculado para 3-s de sinal



selecionado.

#### **4.4 Protocolo de utilização da placa oclusal**

A placa oclusal superior foi confeccionada em resina incolor acrílica e usada na maxila com cobertura palatal e oclusal. Impressões dos arcos maxilar e mandibulares foram feitas com alginato, vazados em gesso pedra e montados no articulador semi-ajustável.

A placa foi construída em cera (duas camadas de cera rosa) e adaptada sobre os dentes da maxila. A placa apresentava 3mm de espessura, contato de todos os dentes em relação cêntrica, distoclusão dos dentes posteriores em lateralidade e protusão, evitando interferências no lado de balanceio com a guia canina estendendo se na região vestibular à lingual o suficiente para prevenir a perfuração e aumentar a resistência ao impacto foi colocado também um expansor, para que o mesmo possa ser utilizado para acompanhar a dinâmica do crescimento. Seguindo o protocolo de Hachmann et al [46].

As crianças usaram somente a noite por 2 meses com ajustes semanais. Era realizada a ativação em ¼ de volta apenas quando havia necessidade, ou seja, quando apresentava falta de retenção e estabilidade do dispositivo no arco.

#### **4.5 Protocolo de coleta dos biomarcadores salivares**

A saliva foi coletada por meio de rolete de algodão posicionado na região sublingual, durante 2 minuto e na sequência, armazenado dentro de *salivettes* (Salivettes, Sarsted). Em seguida, os *salivettes* foram submetidos a centrifugação e separados em eppendorfs para armazenamento à -20 ° C até o processamento da análise [25]. As coletas foram feitas observando as seguintes condições: foram coletadas 2 amostras de saliva, na casa dos participantes com horário estipulado em 9 horas da manhã e antes de dormir, respeitando 1 hora de jejum, seguida de higiene bucal com água. A coleta era realizada no domingo de acordo com a orientação e armazenamento seguindo as recomendações do fabricante e era entregue na segunda feira para análise na Universidade Nove de Julho.

##### *4.5.1. Protocolo de da dopamina salivar*

As amostras foram dosadas em duplicatas, de tal forma que as amostras de um mesmo indivíduo fossem dosadas no mesmo ensaio. A dopamina foi dosada por meio do kit

Enzaimunoensaio específico para dopamina (*Salimetrics, State College, PA, EUA*), a temperatura ambiente (25°C) ilustrado na figura 3.

No dia do ensaio, as amostras foram descongeladas em geladeira e centrifugadas novamente. Os volumes das amostras foram de 25 microlitro, com tempo de incubação de 60 minutos, sendo que os controles e padrões foram dosados na mesma placa.

O procedimento segue o princípio básico de enzima imunoensaio, onde existe competição entre um antígeno não marcado e um antígeno marcado com enzima, por um número determinado de sítios de ligação no anticorpo. A análise foi realizada por meio de leitura da absorbância da solução, utilizando-se leitora de microplacas ajustada em 450nm (e filtro de correção de 630nm).



#### **4.6. Protocolo de aplicação do LED infravermelho**

O Grupo 2 foi submetido ao tratamento com terapia de fotobiomodulação utilizando um dispositivo contendo 6 LEDs com comprimento de onda de 850 nm +/- 20 nm, tempo de operação de 7 minuto e parâmetros que acompanham a quadro 2. Estes dispositivos foram posicionados na região dos músculos da mastigação temporal e masseter afim de promover os efeitos terapêuticos da fotobiomodulação (Figura 4). Os parâmetros EMG e biomarcadores salivares foram avaliados na sequência da aplicação.

Figura 4: Posicionamento das placas de LED infravermelho nos músculos da mastigação.



(as legendas das figuras são abaixo)

Quadro 2: Parâmetros do equipamento fornecidos pela Cosmedical®.

PARÂMETROS	Sportlux médio
Fonte de luz	LED
Técnica de aplicação	Contato
Comprimento de onda	6 LEDs com 850nm
Banda espectral	20 nm
Diâmetro da abertura	1 cm
Área do feixe no alvo	1 cm <sup>2</sup>
Potência média de cada LED	5 mW
Irradiância	5 mW/cm <sup>2</sup>
Tempo de aplicação	7 minutos
Energia	2,1J
Exposição radiante	2,1 J/cm <sup>2</sup>
Ângulo de emissão da luz	120°

### Conferir os parâmetros dos LEDS

#### 4.7. Organização e tratamento estatístico dos dados

Para análise dos dados da EMG, os procedimentos estatísticos foram realizados com o auxílio do SPSS versão 20.0 (SPSS Inc.). O teste de Shapiro-Wilk demonstrou que os dados eram normalmente distribuídos. Média e desvio padrão foram calculados para os dados EMG. Análise de variância bidirecional (ANOVA) foi utilizado para analisar a influência dos grupos (controle vs LED versus placa oclusal) e tratamento (pré - vs pós - tratamento) sobre a atividade muscular. O teste post hoc de Bonferroni usado para verificar diferenças na atividade muscular

entre equipamentos e posições dos pés. *Eta* quadrado parcial ( $\eta^2_p$ ) foi usado para calcular o tamanho do efeito. A interpretação baseou-se nos valores estabelecidos pela COHEN (1998): efeito pequeno (menor que  $\eta^2_p = 0,1$ ), efeito moderado (aproximadamente  $\eta^2_p = 0,6$ ) e efeito grande (maior que  $\eta^2_p = 0,14$ ). Para todas as análises, um valor de  $p \leq 0,05$  foi considerado indicativo de significância estatística.

Para análise dos níveis de dopamina salivar, a estatística exploratória consistiu de médias, desvio padrão, medianas e quartis. A normalidade foi testada pelo teste Shapiro-Wilk e observação dos gráficos Quartil-quartil-plot (QQ-plot). As variáveis dopamina e cortisol salivares não seguiram uma distribuição normal e foram transformadas pelo logaritmo natural (ln).

Inicialmente, foi utilizado o teste MANOVA para saber o efeito do sexo (masculino/feminino) sobre as concentrações salivares de dopamina e cortisol ao início do estudo (baseline).

Por meio do teste ANOVA modelo misto de três vias, foi verificado o efeito do sexo (masculino e feminino), do grupo (G1, G2 e G3) e do tempo (pré e pós-tratamento) e a interação entre estes fatores na variância observada da dopamina salivar (considerada como variável dependente). Utilizando-se o teste ANOVA modelo misto de duas vias, foi verificado o efeito do grupo (G1, G2 e G3) e do tempo (pré e pós-tratamento) e a interação entre estes fatores na variância observada do cortisol salivar (considerado como variável dependente); em ambos os testes foram obtidos o tamanho do efeito (*Eta* parcial quadrado) e poder do teste para cada modelo. Os resultados do teste de esfericidade de Mauchley e de igualdade de variâncias de Levene foram avaliados como premissas da ANOVA.

## 5. RESULTADOS

A tabela 1 demonstra a média e o desvio padrão da atividade eletromiográfica normalizada dos músculos temporal direito, masseter direito, temporal esquerdo, masseter esquerdo e trapézio (TD, MD, TE, ME e do UT). De acordo com os resultados apresentados pela ANOVA (Tabela 2), foi possível observar que todos os tratamentos proporcionaram alterações significativas na atividade dos músculos da mastigação em repouso e mastigação. No entanto, na comparação entre os grupos, os tratamentos foram diferentes ( $P < 0,01$ : Bonferroni post hoc test) somente para a atividade EMG dos músculos mastigatórios coletados em repouso entre os grupos G2 (LED) e G3 (Placa).

**Tabela 1.** Média e desvio padrão da amplitude do sinal eletromiográfico, normalizado pela contração voluntária máxima (%MVC) dos músculos da mastigação (temporal direito - TD, masseter direito - MD, temporal esquerdo - TE, masseter esquerdo - ME).

	Grupo controle		Grupo LED		Placa oclusal	
	Pre	Pos	Pre	Pos	Pre	Pos
<b>Repouso</b>						
<b>TD(%MVC)</b>	9.59(6.34)	7.36(5.57)	4.86(4.31)	7.74(6.41)	6.54(6.29)	13.80(10.53)
<b>MD(%MVC)</b>	8.10(4.80)	8.59(5.03)	5.08(3.59)	8.17(4.88)	8.64(6.18)	12.76(8.56)
<b>TE(%MVC)</b>	9.38(5.22)	7.29(4.83)	5.33(3.79)	8.79(4.83)	5.98(4.81)	12.52(6.56)
<b>ME(%MVC)</b>	7.23(3.03)	5.78(3.35)	5.47(2.78)	6.46(3.87)	5.95(2.92)	9.57(5.22)
<b>Mastigação</b>						
<b>TD(%MVC)</b>	31.96(13.51)	27.74(13.94)	28.92(12.54)	34.81(25.90)	28.69(17.80)	28.67(15.92)
<b>MD(%MVC)</b>	25.26(18.86)	23.93(13.02)	22.42(12.82)	33.38(34.36)	27.34(12.51)	30.07(12.59)
<b>TE(%MVC)</b>	34.28(11.54)	28.93(9.38)	35.48(12.14)	37.60(16.49)	27.87(15.61)	31.39(13.47)
<b>ME(%MVC)</b>	23.86(10.23)	23.29(5.42)	22.55(10.45)	26.89(14.68)	23.94(12.99)	25.78(10.09)

**Tabela 2.** Anova. Comparação pré e pós tratamento dos músculos mastigatórios em rest position e a durante mastigação.

Movimentos	Músculos da mastigação					
	Repouso			Mastigação		
	F	P Value	$p^2$	F	P Value	$p^2$
<b>Tratamento</b>	16.11	<0.001*	0.16	0.66	0.41	0.008
<b>Grupos tratados *</b>	12.31	<0.001*	0.22	1.51	0.22	0.03

\* Diferença estatística significativa.

$p^2$ : Partial eta squared.

A descrição da amostra avaliada encontra-se na Tabela 3. Inicialmente, foi avaliado o efeito do sexo na concentração salivar de dopamina ao início do estudo (baseline). Na dopamina, um efeito significativo foi observado (Manova; p-valor=0,03; Eta parcial quadrado=0,182), devendo este fator ser controlado na análise subsequente (modelo misto).

Na Tabela 3 encontram-se também os resultados do teste ANOVA modelo misto para dopamina salivar.

**Tabela 3. Características da amostra e efeito do tempo e grupo na dopamina e salivar.**

		n	Idade (anos)	Dopamina salivar
<i>Pré-tratamento</i>	<i>G1</i>	10	<b>6-8 anos</b>	
	<i>G2</i>	10	<b>6-8 anos</b>	
	<i>G3</i>	10	<b>6-8 anos</b>	
<i>Pós-tratamento</i>	<i>G1</i>	10	<b>6-8 anos</b>	
	<i>G2</i>	10	<b>6-8 anos</b>	
	<i>G3</i>	10	<b>6-8 anos</b>	
<i>Efeito do tempo</i>				0,462 (0,11)
<i>Efeito de interação tempo*grupo</i>				0,201 (0,33)
<i>Efeito de interação tempo*sexo</i>				0,351 (0,15)

Não foi observado efeito do **tempo** para a dopamina salivar, em qualquer um dos grupos, ou seja, a concentração de dopamina salivar não diferiu após o tratamento nos três grupos (G1, G2, G3). Também não foi observada diferença nas concentrações entre os grupos (p>0,05).

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram uma melhora na atividade muscular tão eficiente quanto no uso da placa rígida oclusal. Isso corrobora com o estudo de Kuhn M. et. al, 2018, o qual ressalta inicialmente os fatores de risco em pacientes com bruxismo, que em crianças e adolescentes causam além do sofrimento, predominaram anormalidades comportamentais e distúrbios do sono. Na revisão, embora muitas das variáveis descritas não possam ser

influenciadas por meios profiláticos ou terapêuticos, recomenda-se uma abordagem centrada no paciente, visando a auto-observação, relaxamento muscular, estabilização por meio de placa de Michigan, estabelecido como padrão ouro.

Na literatura, terapias alternativas são estudadas além do padrão ouro estabelecido. Outros tratamentos sugeridos para o bruxismo do sono em crianças são os medicamentosos, como buspirona (Saglam E. et. al,2019), fluoxetina (Akbas et. al, 2019) e diazepam (Mostafavi SN et al, 2019). Todos observam uma ineficácia da farmacologia empregada, além de ressaltarem todos os efeitos adversos que acompanham dada a administração. O presente estudo visou avaliação os parâmetros frente a uma terapia não farmacológica, sem os efeitos adversos que acompanham tais drogas com resultados positivos em relação à atividade muscular.

Outros métodos não farmacológicos também já foram estudados para o bruxismo. Foi o caso de métodos utilizados na fisioterapia, como massagem muscular, os quais melhoraram a dor muscular e a atividade, abertura bucal, saúde bucal, ansiedade, estresse, depressão, disfunção temporomandibular e postura da cabeça em indivíduos com bruxismo. (Amorim CSM et al, 2018). Entretanto, estudos como o de Gouw S et al 2018, concluem que o alongamento estático dos músculos mastigatórios resultou em um pequeno aumento nos episódios de bruxismo do sono (não significativo) e em rajadas (significativas). ~~Isso também levou a um aumento significativo no MMO e no PPT.~~ Portanto, o alongamento do músculo mastigatório não foi eficaz na redução do bruxismo do sono na ausência de dor e / ou disfunção.

No campo da odontologia, a atividade EMG foi avaliada em estudos com pacientes com bruxismo tratados com alinhadores ortodônticos, entretanto apesar de se tratar de dispositivo intra-oral, assim como a placa rígida, nenhuma diferença significativa foi observada no sinal EMG (Castroflorio T. et al, 2018 ; Manfredini D. et al, 2018).

A importância de utilizar os parâmetros relacionados à atividade muscular em avaliar a eficácia das terapias aplicadas, como abordado da metodologia deste estudo, é justificada por meio da revisão bibliográfica de (Baad-Hansen L et al. 2019), no qual pode-se concluir que o bruxismo está associado, em certa medida, aos sintomas musculoesqueléticos, embora as evidências sejam conflitantes e pareçam depender de muitos fatores, como a idade, se o bruxismo ocorre durante o sono ou a vigília, e também a qualidade do diagnóstico. metodologia sobre bruxismo e sinais e sintomas musculoesqueléticos. A literatura não suporta uma relação causal linear direta entre o bruxismo e tais sintomas, mas aponta mais na direção de uma relação

multifacetada dependente da presença de outros fatores de risco. A dor é, de longe, o sintoma mais comumente avaliado, enquanto os sintomas musculoesqueléticos não dolorosos geralmente não foram sistematicamente avaliados. À luz de descobertas recentes que indicam que sintomas não dolorosos podem preceder a dor da DTM, sugere-se aumentar o foco científico em sintomas musculoesqueléticos não dolorosos em estudos futuros. Além disso, estudos futuros devem usar métodos validados para definição de casos e avaliações de resultados.

A avaliação de parâmetros que avaliem a eficiência da fotobiomodulação em pacientes infantis com bruxismo do sono ainda não havia sido empregada até o presente momento. Entretanto, essa terapia foi avaliada em outras desordens como a temporomandibular (DTM) e obteve bons resultados. Em uma única sessão de fototerapia combinada foi capaz de reduzir a intensidade da dor em indivíduos com DTM. A fotobiomodulação combinando duas fontes de luz (LED e laser) e diferentes densidades no mesmo dispositivo, se mostrou uma novidade no mercado de reabilitação e tem se mostrado uma intervenção útil para pessoas com desordens temporomandibulares. Esse modo de fotobiomodulação é outra opção que auxilia na rápida intervenção nos sintomas de dor, promovendo um considerável grau de conforto ao paciente momentos após sua aplicação (Herpich CM et al, 2018).

Apesar da placa rígida oclusal ser considerada o padrão ouro, a dificuldade na colaboração do uso da placa rígida oclusal por pacientes infantis ainda é um desafio na prática clínica, e por isso a busca por novas terapias alternativas faz-se necessária. A SB pode estar associada a um impacto negativo na qualidade do sono e na qualidade do sono. Determinar que a SB pode ter um papel marcante na qualidade de sono e OHRQoL é importante para os profissionais de odontologia estabelecer um manejo multifatorial adequado e compreender os aspectos psicossociais relacionados ao paciente. (Câmara-Souza MB et al 2019)

Apesar de já ter sido quantificada, por meio dos seus níveis salivares (Kang *et al.*, 2014), o presente estudo não corrobora com os resultados, uma vez nos resultados de dopamina não foram observadas diferenças na quantificação dos níveis de dopamina entre os grupos. É sabido que uma das influências sobre o mecanismo fisiológico da secreção desse neurotransmissor age em conjunto com o mecanismo adrenérgico, ou seja, é desencadeado a partir de um estímulo estressor. A partir desses resultados, sugerimos avaliar níveis de dopamina a partir de níveis de ansiedade mais altos, ou pacientes com bruxismo quando considerado um fator de risco: o bruxismo existe e é associado a um ou mais desfechos negativos à saúde ou um fator de proteção: o bruxismo existe e é associado a um ou mais desfechos positivos à saúde.



## ESTUDOS

**Estudo I-** publicado em *Medicine* (Baltimore). 2019 Sep;98(38):e17193.

doi: 10.1097/MD.00000000000017193.

*Título:* Evaluation of the effectiveness of infrared light-emitting diode photobiomodulation in children with sleep bruxism: Study protocol for randomized clinical trial.

*Autores:* Kobayashi FY, Castelo PM, Gonçalves MLL, Motta LJ, Mota ACDC, Altavista OM, Pinto MM, Salgueiro MC, Ferreira KPS, Bussadori SK.

### Abstract

**Background:** Sleep bruxism is a masticatory muscle activity characterized as rhythmic (phasic) or nonrhythmic (tonic). In children and adolescents, etiological factors, such as breathing pattern and sleep quality, have recently been addressed in studies investigating sleep bruxism. New therapies for adults, such as botulinum toxin, have been investigated, but such techniques are not applicable for individuals in the growth and development phase. **Methods:** The participants will be 76 children, which will be randomly allocated to a control group, that is group 1, absence of bruxism; group 2, children with bruxism treated with infrared light-emitting diode (LED); and group 3, bruxism treated with occlusal splint. All participants will be submitted to a clinical evaluation to evaluate muscle activity and salivary biomarkers, before and after treatments. Muscle activity will be verified by electromyography of muscles mastication, masseter and temporal, and salivary biomarkers observed will be cortisol and dopamine levels. **Discussion:** Photobiomodulation therapy has piqued the interest of researchers, as this noninvasive method has demonstrated positive results in problems related to muscle tissues. This document describes the protocol for a proposed study to evaluate morphological and psychosocial aspects in children and adolescents with awake bruxism and their responses to photobiomodulation therapy with infrared LED. **Clinical trials:** <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03710174> **Keywords:** children, electromyography, LED, salivary biomarkers, sleep bruxism

## **Introduction**

Sleep bruxism is a masticatory muscle activity during sleep that is characterized as rhythmic (phasic) or nonrhythmic (tonic) and is not a movement disorder or a sleep disorder in otherwise healthy individuals<sup>1</sup>. Clenching and/or grinding the teeth while sleeping is denominated primary or sleep bruxism, whereas clenching/ grinding the teeth during the day is denominated secondary or awake bruxism.[1]

The etiology of bruxism is widely discussed in the literature. Studies investigating emotional disorders have increasingly found an association with parafunctional muscle activity, such as bruxism. According to Wieckiewicz et al (2014),[2] bruxism may be related to the occlusion or may be caused entirely by psychological stimuli. Indeed, individuals with a more aggressive, compulsive, or controlling profile are reported to be more susceptible to the development of bruxism.[3] Stress can be measured using salivary biomarkers, such as cortisol, which is a hormone activated by the hypothalamuspituitary-adrenal axis in response to a physical or psychological stressor.

Repeated exposure to stress can trigger excessive cortisol secretion, which can have harmful effects on one's health.[4] Dopamine is a neurotransmitter from the family of catecholamines and phenylethylamines that, among other functions, contributes to the control of movements, learning, mood, emotions, cognition, and memory.[5] Like cortisol, dopamine can also be quantified based on salivary levels.[6] Changes in dopamine levels have been related to neuropsychiatric disorders, such as Parkinson disease, in which diminished concentrations of dopamine are found in the nigrastratial pathway, or schizophrenia, both of which are diseases that affect the motricity of muscles.[6]

Although some studies have evaluated the dopamine concentration in salivary fluid,[5,6] no studies have investigated dopamine concentrations in patients with bruxism, despite the fact that this problem affects the motricity of oral muscles. The surrounding environment exerts a direct influence on the reflexes of the body in response to a stressor. All impressions related to the external environment are processed and evaluated by the central nervous system, more precisely the limbic system and hypothalamus, which provoke adequate emotions and stimulate the sympathetic nervous system, releasing adrenaline, which triggers changes, such as increases in the respiratory rate, heart rate, muscle tension, glucose level, and blood pressure.

Any information that provokes such a response is recognized as a stressor.[7,8] The effects of the suppression of emotions and motor activities overload the function of the organism, resulting in various neuromuscular disorders.[9] Clenching the teeth has been

associated with anxious tendencies.[10] Anxiety in children is a common occurrence in pediatric clinical practice.

The prevalence of anxiety ranges from 2.5% to 5% in the general population and 10.6% to 24% in children with bruxism.[11] Differently from adults, symptoms related to anxiety change with the different phases of development in children, which often makes identification difficult. Therefore, if not detected at an early age, bruxism could lead to consequences that compromise the function of the stomatognathic system, exerting a negative effect on quality of life. The most indicated treatment for bruxism is an occlusal adjustment with the use of a bite plate (Michigan splint).[12]

Alternative treatments for muscle disorders have been developed and have demonstrated good results, such as low-level laser therapy (LLLT). LLLT has been administered to acupuncture points in adults with temporomandibular disorder,[13] with a significant difference found in signs and symptoms of the disorder following application of the technique. The authors attribute the success of therapy to the reduction in pain and muscle relaxation promoted by LLLT. Physiologically, LLLT is a form of biostimulation involving the occurrence of increased blood circulation, vasodilatation, analgesia, an anti-inflammatory effect, a reduction in edema, and the acceleration of the healing process of injured tissues.

Photobiomodulation therapy with a light-emitting diode (LED) has also been used for the treatment of muscle disorders. Silva et al. (2015)[14] established a treatment protocol for fibromyalgia including the use of LED. Besides the physiological gains that occur with LLLT, the authors consider LED treatment accessible because of its low cost and more durable equipment, making this a viable treatment option.

### **Aim**

The aim of this project is to establish a protocol for evaluation of effectiveness of photobiomodulation therapy in children with sleep bruxism.

### **Material and methods**

This project was evaluated by the human research ethics committee of University Nove de Julho (certificate of approval: 1.333.636) and clinical trials ID NCT03710174. The sample size was calculated considering  $\alpha=0.05$  and an 80% power ( $n=16$  per group), to which 20% will be added to compensate for possible dropouts ( $n=19$  per group), totaling 76 children and adolescents.

Additionally, sample size was calculated for internal validity by using the results of a previous study that evaluated the decrease in signs and symptoms of TMD after occlusal splint therapy (Restrepo et al[15]). Considering a mean difference between treatments equal to 2 (SD=2), 3 groups, power of test of 80%, and an alpha level of 0.05, a minimum of 30 subjects should be included in each group.

The protocol is in accordance with the 2013 SPIRIT (Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials) Statement. The SPIRIT checklist can be found as an additional file and Figure 1 is the SPIRIT figure. SPIRIT was developed to provide guidance in the form of a checklist of recommended items to include in a clinical trial protocol, to help improve its content and quality (Fig. 2).

1.1. Inclusion criteria The sample will be composed of children in the mixed dentition phase (permanent incisors and molars erupted) and adolescents with an established permanent dentition.

1.2. Exclusion criteria Individuals with dental caries, those taking medications, such as anti-inflammatory agents, muscle relaxants, corticoids, anticonvulsants, and antidepressants, those with chronic diseases that affect muscles or motor coordination, and those who do not cooperate during the evaluation will be excluded from the study.

1.3. Allocation procedure Block randomization (groups of 4 participants) will be performed using sequentially numbered (1–76) opaque envelopes. The contents of the envelopes will be determined randomly with the aid of a computer program. Each envelope will contain a piece of paper stipulating the group to which the child/adolescent will be allocated. The envelopes will be sealed until the time of treatment.

*1.3.1. Groups:* The participants will be randomly allocated to the following groups:

Group 1: control—absence of bruxism.

Group 2: bruxism treated with infrared LED.

Group 3: bruxism treated with occlusal splint.

#### *1.4. Evaluation of bruxism*

The diagnosis will be based on the reports of parents/caregivers regarding the occurrence of grinding the teeth. For such, parents/ caregivers will receive a patient history questionnaire to fill out and deliver to the school. The following clinical signs will also be investigated for the diagnosis: abnormal tooth wear on functional cusps of the teeth, tooth marks

on tongue, linea alba on the buccal mucosa along the occlusal plane, gingival recession, mandibular and/or maxillary torus, fractures, and/or cracks on the teeth.[12]

#### *1.5. Photobiomodulation treatment protocol*

The volunteers in Group 2 will be submitted to the initial evaluation of the morphological and psychosocial variables. During the same appointment, red LED (36 cm) will be administered using a board with 6 LEDs with a wavelength of  $650\pm 20$  nm, 7-minute operation time, optical spot of  $5\pm 2$ mm, and optical output of  $2\sim 5$ mW, with a dose of  $2.675$  J/cm<sup>2</sup>. Further analyses will be performed immediately after the photobiomodulation session and 1 week later. Group 3 will be submitted to the same analyses using an infrared LED protocol (wavelength:  $850\pm 20$  nm) with the same dose of  $2.675$  J/cm<sup>2</sup>.

The volunteers in Group 4 will be treated using the standard protocol of a rigid occlusal splint. After the initial evaluation, molds will be made for the fabrication of the splints, which will be delivered 1 week later. Written and verbal instructions for use will be given. After 1 month of daily use, the volunteers will return for the final morphological and psychosocial evaluations.

#### *Assessment aspects.*

The effectiveness of the photobiomodulation therapy will be assessed by the following protocols:

#### *Protocol for electromyographic evaluation*

Electromyography will be performed to complement the evaluation of the morphological aspects of the groups. The masseter and temporal muscles will be evaluated using a portable electromyograph (BTS TMJOINT) with wireless electrodes. The participant will be seated with Camper plane parallel to the floor. Three readings will be made on both sides with the muscles at rest, during habitual maximum intercuspation (isometric contraction), and during simulated chewing with Parafilm (isotonic contraction). The signal will be captured for 10 seconds under each condition. The first chewing cycle will be discarded and the subsequent 5 cycles will be collected.

#### *Protocol for evaluation of salivary cortisol and dopamine levels*

The participants and caregivers will receive verbal and written instructions to avoid any physical activity, the ingestion of substances with alcohol or caffeine, soft drinks, tea, corticoids, and chewing gum in the 24 hours before the collection of the saliva. Saliva samples

will be collected using polyester swabs (Salivette, Sarstedt, Germany), which will be refrigerated immediately after collection.

The swab will be placed under the tongue and the participant will be instructed to move it around the oral cavity until it becomes soaked with saliva (stimulated saliva). Samples with visible signs of blood will be discarded because of possible contamination by plasma cortisol (Miller et al, 1995). The swabs will be centrifuged at 3500 rpm for 5 minutes. The supernatant will be collected and stored at

---

40°C. Cortisol will be determined using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Salimetrics, State College, PA) at room temperature (25°C).

Dopamine will also be determined using an ELISA kit (Dopamine Research ELISA BA E-5300). The samples will be thawed and centrifuged again. The sample volume will be 25mL and incubation time will be 60 minutes. The plates will also have controls and standards.

The procedure will follow the basic ELISA principle of competition between an untagged antigen and an enzyme-tagged antigen for a particular number of binding sites on the antibody. The analysis will involve reading the absorbance of the solution using a microplate reader set at 450 nm and 630- nm correction filter. 1.8.

Analysis of results Data will be statistically analyzed using SPSS 24.0 software (IBM Corp., NY), considering an alpha level of 5%, by one of the authors (PMC, Applied Statistics Specialist). The exploratory statistics will consist of means, standard deviation, medians, and quartiles.

Normality will be tested by Shapiro–Wilk test and Quantilequantile-plot (QQ-plot) analysis. Those variables that do not show normal distribution will be transformed by the natural logarithm (ln). A general linear model—2-way mixed model analysis of variance (ANOVA)—will be used to test the treatment effect in the observed variance of muscle activity and levels of salivary markers (considered as dependent variables).

The effect size (partial Eta squared) and the power of the test for each model will also be obtained. The results of the Mauchley sphericity test and Levene equality of variances will be evaluated as ANOVA premises; when necessary, the Huynh-Feldt correction will be applied.

## **Discussion**

There are some studies related to photobiomodulation in bruxism patients in the literature,[13] but there are none with the use of the infrared LED as the light source, especially

in bruxism.[14] Clinically, the relevance of the study is given by the fact that LED therapy is much cheaper than laser, providing greater accessibility to the population.

#### Author contributions

Conceptualization: Kristianne Porta Santos Ferreira, Sandra Kalil Bussadori. Formal analysis: Paula Midori Castelo, Olga Maria Altavista. Funding acquisition: Kristianne Porta Santos Ferreira. Investigation: Marcela Leticia Leal Gonçalves, Leticia Leal Gonçalves, Ana Carolina da Costa Mota, Olga Maria Altavista. Methodology: Fernanda Yukie Kobayashi, Ana Carolina da Costa Mota, Marcelo Mendes Pinto. Project administration: Monica Canuto Salgueiro. Resources: Monica Canuto Salgueiro. Software: Marcela Leticia Leal Gonçalves. Supervision: Monica Canuto Salgueiro. Validation: Marcela Leticia Leal Gonçalves, Monica Canuto Salgueiro, Sandra Kalil Bussadori. Visualization: Ana Carolina da Costa Mota. Writing – original draft: Fernanda Yukie Kobayashi, Marcela Writing – review & editing: Paula Midori Castelo, Sandra Kalil Bussadori. References [1] Lobbezoo F, Ahlberg J, Raphael KG, et al. International consensus on the assessment of bruxism: Report of a work in progress. *J Oral Rehabil* 2018;45:837–44. [2] Wieckiewicz M, Paradowska-Stolarz A, Wieckiewicz W. Psychosocial aspects of bruxism: the most paramount factor influencing teeth grinding. *Biomed Res Int* 2014;2014:469187. [3] Takemura T, Takahashi T, Fukuda M, et al. A psychological study on patients with masticatory muscle disorder and sleep bruxism. *Cranio* 2006;24:191–6. [4] Kupper N, Gidron Y, Winter J, et al. Association between type D personality, depression, and oxidative stress in patients with chronic heart failure. *Psychosom Med* 2009;71:973–80. [5] Rodríguez Cerdeira C, Sánchez-Blanco E, Sánchez-Blanco B, et al. Working Group of IISGSProtein biomarkers of mood disorders. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2017;30:7–12. [6] Kang WY, Yang Q, Jiang XF, et al. Salivary DJ-1 could be an indicator of Parkinson’s disease progression. *Front Aging Neurosci* 2014;6:102. [7] Yang J, Qi M, Guan L, et al. The time course of psychological stress as revealed by event-related potentials. *Neurosci Lett* 2012;530:1–6. [8] Boone JL, Anthony JP. Evaluating the impact of stress on systemic disease: the MOST protocol in primary care. *J Am Osteopath Assoc* 2003;103:239–46. [9] Marker RJ, Stephenson JL, Kluger BM, et al. Modulation of intracortical inhibition in response to acute psychosocial stress is impaired among individuals with chronic neck pain. *J Psychosom Res* 2014;76:249–56. [10] Endo H, Kanemura K, Tanabe N, et al. Clenching occurring during the day is influenced by psychological factors. *J Prosthodont Res* 2011;55:159–64. [11] Knutson GA. Vectored upper cervical manipulation for chronic sleep bruxism, headache, and cervical spine pain in a child. *J Manipulative Physiol Ther* 2003;26:E16. [12] Murali RV, Rangarajan P, Mounissamy A.

Bruxism: Conceptual discussion and review. *J Pharm Bioallied Sci* 2015;7(Suppl 1):S265–70.

[13] Huang YF, Lin JC, Yang HW, et al. Clinical effectiveness of laser acupuncture in the treatment of temporomandibular joint disorder. *J Formos Med Assoc* 2014;113:535–9. [14] da Silva MM, Albertini R, Leal-Junior EC, et al. Effects of exercise training and photobiomodulation therapy (EXTRAPHOTO) on pain in women with fibromyalgia and temporomandibular disorder: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2015;16:252. [15] Restrepo CC, Medina I, Patiño I. Effect of occlusal splints on the temporomandibular disorders, dental wear and anxiety of bruxist children. *Eur J Dent* 2011;5:441–50.

	Enrolment	Allocation			
TIMEPOINT	1 <sup>st</sup> Aug 2019 – 1 <sup>st</sup> Sep 2019	0	t1 Baseline	t2 Immediately after	30/01/2019
ENROLMENT:					
Eligibility screen	X				
Informed consent	X				
Allocation		X			
Interventions:					
Led Therapy			X		
Occlusal splints			X		
Control			X		
ASSESSMENTS					
Dopamine salivary			↔		
Cortisol salivary			↔		
Muscle activity			↔		
Statistical Analysis					X

Figure 1. Standard protocol items: recommendations for interventional trials (SPIRIT) figure as recommended by 2013 SPIRIT statement.



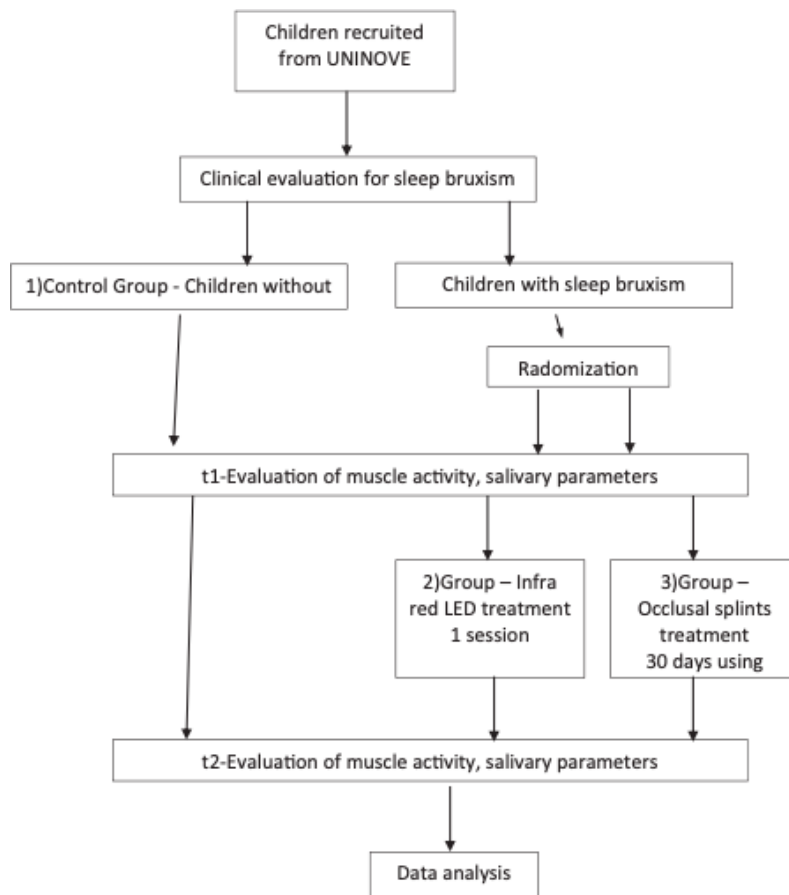


Figure 2. Flowchart activity.

## **Estudo II**

### **Evaluation of dopamine salivary levels and electromyography before and after photobiomodulation therapy in children with sleep bruxism.**

Fernanda Yukie Kobayashi <sup>1</sup>

Paula Midori Castelo <sup>2</sup>

Fabiano Politti <sup>1</sup>

Monise Mendes Rocha <sup>1</sup>

Rafael Zaratín Beltramin <sup>1</sup>

Lara Jansiski Motta <sup>1</sup>

Monica Canuto Salgueiro <sup>1</sup>

Kristianne Porta Santos Fernandes <sup>1</sup>

Raquel Agnelli Mesquita – Ferrari

Sandra Kalil Bussadori <sup>1</sup>

1 – Department of Biophotonics applied in health sciences – UNINOVE

2- Department of Pharmaceutical Sciences - UNIFESP

Corresponding author: Sandra Kalil Bussadori

Address: Vergueiro Street, 235/249 – Liberdade ZIP 01504-001. São Paulo – SP- Brazil

Phone No.: +55 11 33859088

E-mail: [sandra.sk@gmail.com](mailto:sandra.sk@gmail.com)

Key word: Sleep bruxism, LED, children, photobiomodulation, cortisol, dopamine, salivary biomarkers

## **Abstract**

**Background:** Sleep bruxism is a masticatory muscle activity condition in health individuals, characterized as rhythmic (phasic) or non-rhythmic (tonic). In children and adolescents, etiological factors have recently been addressed in studies investigating sleep bruxism. Photobiomodulation therapy is a noninvasive method and demonstrated positive results in problems related to muscle tissues. The aim of the study is to evaluate salivary biomarkers in children with sleep bruxism and their responses to photobiomodulation therapy with infrared LED.

**Methods:** Thirty children were divided in three groups, Group 1: control – absence of bruxism (n = 10), Group 2: bruxism treated with infrared LED (n = 10), group 3: bruxism treated with occlusal splint (n = 10). Before and after treatments protocols, electromyographic and salivary cortisol and dopamine levels were evaluated.

**Analysis of results:** Data were statistically analyzed using SPSS 24.0 software (IBM Corp., NY, USA), considering an alpha level of 5%, by one of the authors (PMC, Applied Statistics Specialist). Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the influence of groups. For all analyzes, a value of  $p < 0.05$  was considered.

**Results:** According to the results presented by ANOVA (Table 2), it was possible to observe that all the treatments provided significant changes in the activity of chewing muscles in rest positions and chewing and in UT muscles. However, in the comparison between groups, the treatments were different only for EMG activity of masticatory muscles collected in rest position between groups G2 (LED) and G3 (Plate).

**Clinical relevance:** the relevance of the study is given by the fact that LED therapy is much cheaper than laser or occlusal splints, providing greater accessibility to the population.

Trial registration: NCT03710174

\*\*\*Tanto placa quanto led tem efeito local e não sistêmico – por isso não deu resultado na dopamina

## **Introduction**

Sleep bruxism is a masticatory muscle activity condition in health individuals, characterized as rhythmic (phasic) or non-rhythmic (tonic) and is not considered a movement disorder or a sleep disorder in otherwise healthy individuals<sup>1</sup>. Clenching and/or grinding the teeth while sleeping is denominated primary or sleep bruxism, whereas clenching/grinding the teeth during the day is denominated secondary or awake bruxism [1].

The etiology of bruxism is widely discussed in the literature. Studies investigating emotional disorders have increasingly found an association with parafunctional muscle activity, such as bruxism. According to Wieckiewicz et al. (2014) [2], bruxism may be related to the occlusion or may be caused entirely by psychological stimuli. Indeed, individuals with a more aggressive, compulsive or controlling profile are reported to be more susceptible to the development of bruxism [3].

Dopamine is a neurotransmitter from the family of catecholamines and phenylethylamines that, among other functions, contributes to the control of movements, learning, mood, emotions, cognition and memory [5]. It can be quantified based on salivary levels [6]. Changes in dopamine levels has been related to neuropsychiatric disorders, such as Parkinson's disease, in which diminished concentrations of dopamine are found in the nigrastratial pathway, or schizophrenia, both of which are diseases that affect the motricity of muscles [6]. While some studies have evaluated the dopamine concentration in salivary fluid [5,6] no studies have investigated dopamine concentrations in patients with bruxism, despite the fact that this problem affects the motricity of oral muscles.

The surrounding environment exerts a direct influence on the reflexes of the body in response to a stressor. All impressions related to the external environment are processed and evaluated by the central nervous system, more precisely the limbic system and hypothalamus, which provoke adequate emotions and stimulate the sympathetic nervous system, releasing adrenaline, which triggers changes, such as increases in the respiratory rate, heart rate, muscle tension, glucose level and blood pressure. Any information that provokes such a response is recognized as a stressor [7,8]. The effects of the suppression of emotions and motor activities overload the function of the organism, resulting in various neuromuscular disorders [9].

Clenching the teeth has been associated with anxious tendencies [10]. Anxiety in children is a common occurrence in pediatric clinical practice. The prevalence of anxiety ranges

from 2.5 to 5% in the general population and 10.6 to 24% in children with bruxism [11]. Differently from adults, symptoms related to anxiety change with the different phases of development in children, which often makes identification difficult. Therefore, if not detected at an early age, bruxism could lead to consequences that compromise the function of the stomatognathic system, exerting a negative impact on quality of life.

The most indicated treatment for bruxism is an occlusal adjustment with the use of a bite plate (Michigan splint) [12]. Alternative treatments for muscle disorders have been developed and have demonstrated good results, such as low-level laser therapy (LLLT). LLLT has been administered to acupuncture points in adults with temporomandibular disorder [13], with a significant difference found in signs and symptoms of the disorder following application of the technique. The authors attribute the success of therapy to the reduction in pain and muscle relaxation promoted by LLLT. Physiologically, LLLT is a form of biostimulation involving the occurrence of increased blood circulation, vasodilatation, analgesia, an anti-inflammatory effect, a reduction in edema and the acceleration of the healing process of injured tissues. Photobiomodulation therapy with a light-emitting diode (LED) has also been used for the treatment of muscle disorders. Silva et al. (2015) [14] established a treatment protocol for fibromyalgia including the use of LED. Besides the physiological gains that occur with LLLT, the authors consider LED treatment accessible due to its low cost and more durable equipment, making this a viable treatment option.

## **Objective**

The aim of this study is evaluated the effectiveness of LED infrared therapy in children with sleep bruxism, considering muscle activity and dopamine salivary parameters.

## **Methods**

This study was evaluated by the human research ethics committee of University Nove de Julho (certificate of approval: 1.333.636) and clinical trials ID NCT03710174. The sample size was calculated considering  $\alpha = 0.05$  and an 80% power ( $n = 10$  per group), to which 20% will be added to compensate for possible dropouts ( $n = 10$  per group), totaling 30 children and adolescents. Additionally, sample size was calculated for internal validity by using the results of a previous study that evaluated the decrease in signs and symptoms of TMD after occlusal splint therapy (Restrepo et al., 2011). Considering a mean difference between treatments equal

to 2 (SD=2), 3 groups, power of test of 80% and an alpha level of 0.05, a minimum of 30 subjects should be included in each group.

#### *Inclusion criteria*

The sample was composed by healthy children in mixed dentition phase (permanent incisors and molars erupted).

#### *Exclusion criteria*

Individuals with dental caries, those taking medications, such as anti-inflammatory agents, muscle relaxants, corticoids, anticonvulsants and antidepressants, those with chronic diseases that affect muscles or motor coordination and those who do not cooperate during the evaluation were excluded from the study.

#### *Allocation procedure*

Block randomization (groups of three participants) was performed using sequentially numbered opaque envelopes. The contents of the envelopes were determined randomly with the aid of a computer program. Each envelope contained a piece of paper stipulating the group to which the child was allocated. The envelopes were sealed until the time of treatment.

#### *Groups:*

The participants were randomly allocated to the following groups:

Group 1: control – absence of bruxism (n = 10)

Group 2: bruxism treated with infrared LED (n = 10)

Group 3: bruxism treated with occlusal splint (n = 10)

#### *Evaluation of bruxism*

The diagnosis was based on the reports of parents/caregivers regarding the occurrence of grinding the teeth. For such, parents/caregivers received a patient history questionnaire to fill out and deliver to the school. The following clinical signs also were investigated for the diagnosis: abnormal tooth wear on functional cusps of the teeth, tooth marks on tongue, linea alba on the buccal mucosa along the occlusal plane, gingival recession, mandibular and/or maxillary torus, fractures and/or cracks on the teeth [12].

#### *Photobiomodulation treatment*

The volunteers in Group 2 were submitted to the initial and final evaluation of salivary biomarkers and muscle activity variables. During the same appointment, infrared LED (3 X 6 cm) were administered using a board with 6 LEDs with a wavelength of wavelength:  $850 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$ , seven-minute operation time, optical spot of  $5 \pm 2 \text{ mm}$  and optical output of 2~5 mW, with a dose of  $2.675 \text{ J/cm}^2$ .

### *Occlusal splints*

The volunteers in Group 3 were treated using the standard protocol of a rigid occlusal splint. After the initial evaluation, molds were made for the customer the splints, which will be delivered one week later. Written and verbal instructions for use will be given. After one month of daily use, the volunteers will return for the final morphological and psychosocial evaluations.

- *Assessment aspects*

The effectiveness of the photobiomodulation therapy were assessed by the following protocols:

- *Protocol for electromyographic evaluation*

Electromyography were performed to complement the evaluation of the morphological aspects of the groups. The masseter and temporal muscles were evaluated using a electromyograph (BTS TMJOINT). The participant were seated with Camper's plane parallel to the floor. Three readings were made on both sides with the muscles at rest, during habitual maximum intercuspation (isometric contraction) and during simulated chewing with Parafilm® (isotonic contraction). The signal were captured for 10 seconds under each condition. The first chewing cycle was discarded and the subsequent five cycles were collected.

- *Protocol for evaluation of salivary dopamine levels*

The participants and caregivers received verbal and written instructions to avoid any physical activity, the ingestion of substances with alcohol or caffeine, soft drinks, tea, corticoids and chewing gum in the 24 hours prior to the collection of the saliva. Saliva samples were collected using polyester swabs (Salivette®, Sarstedt, Germany), which were refrigerated immediately after collection. The swab was placed under the tongue and the participant was instructed to move it around the oral cavity until it becomes soaked with saliva (stimulated saliva). Samples with visible signs of blood were be discarded due to possible contamination by plasma (Miller et al., 1995). The swabs were centrifuged at 3500 rpm for 5 minutes. The supernatant was collected and stored at -40° C. Dopamine levels were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay (Salimetrics, State College, PA, USA) at room temperature (25° C). (Dopamine Research ELISA BA E-5300). The samples were thawed and centrifuged again. The sample volume was 25 µl and incubation time was 60 minutes. The plates were also have controls and standards. The procedure was following the basic ELISA principle of competition between an untagged antigen and an enzyme-tagged antigen for a particular number of binding sites on the antibody. The analysis involved reading the

absorbance of the solution using a micro-plate reader set at 450 nm and 630-nm correction filter.

### *Statistical analysis*

The statistical procedures were performed with the aid of SPSS version 20.0 (SPSS Inc.) The Shapiro-Wilk test demonstrated that the data were normally distributed. Mean, standard deviation values were calculated for the EMG data. Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the influence of groups (Control vs LED vs Occlusal splint) and treatment (pre - vs post-treatment) on the muscle activity. The post hoc Bonferroni test used to verify differences in muscle activity between equipment and foot positions. Partial eta squared ( $\eta_p^2$ ) was used to calculate the effect size. The interpretation was based on the values established by COHEN (1998): small effect (less than  $\eta_p^2 = 0.1$ ), moderate effect (approximately  $\eta_p^2 = 0.6$ ) and large effect (greater than  $\eta_p^2 = 0.14$ ). For all analyzes, a value of  $P < 0.05$  was considered indicative of statistical significance[15].

## **Results**

Table 1 shows the mean and standard deviation of the normalized electromyographic activity of RT (right temporal muscle), RM (right masseter muscle) , LT (left temporal muscle), LM (left masseter muscle and UT (upper trapezius muscle) muscles. According to the results presented by ANOVA (Table 2), it was possible to observe that all the treatments provided significant alterations in the activity of chewing muscles in rest positions and chewing and UT muscles. However, in the comparison between the groups, the treatments were different ( $P < 0.01$ : Bonferroni post hoc test) only for the EMG activity of the masticatory muscles collected in rest position between the G2 (LED) and G3 (Plate) groups.

Table 1. Mean and standard deviation of the amplitude of the electromyographic signal, normalized by maximum voluntary contraction (% MVC), chewing muscles (RT, RM, LT and LM) and UT muscles.

	<b>Control group</b>		<b>LED group</b>		<b>Occlusal splint group</b>	
	<b>Pre</b>	<b>Post</b>	<b>Pre</b>	<b>Post</b>	<b>Pre</b>	<b>Post</b>
<b>Rest position</b>						
<b>RT(%MVC)</b>	9.59(6.34)	7.36(5.57)	4.86(4.31)	7.74(6.41)	6.54(6.29)	13.80(10.53)
<b>RM (%MVC)</b>	8.10(4.80)	8.59(5.03)	5.08(3.59)	8.17(4.88)	8.64(6.18)	12.76(8.56)
<b>LT (%MVC)</b>	9.38(5.22)	7.29(4.83)	5.33(3.79)	8.79(4.83)	5.98(4.81)	12.52(6.56)
<b>LM (%MVC)</b>	7.23(3.03)	5.78(3.35)	5.47(2.78)	6.46(3.87)	5.95(2.92)	9.57(5.22)
<b>Chewing</b>						
<b>RT(%MVC)</b>	31.96(13.51)	27.74(13.94)	28.92(12.54)	34.81(25.90)	28.69(17.80)	28.67(15.92)



Interactions	Masticatory muscles						Upper trapezius muscle		
	Rest position			Chewing			Shoulder elevation		
				<i>P</i>			<i>P</i>		
	F	<i>P</i> Value	$\eta_{p2}$	F	Value	$\eta_{p2}$	F	Value	$\eta_{p2}$
	16.1			0.6			6.0		
<b>Treatment</b>	1	<0.001*	0.16	6	0.41	0.008	7	0.01*	0.24
<b>Treatment *</b>	12.3			1.5			1.8		
<b>Groups</b>	1	<0.001*	0.22	1	0.22	0.03	3	0.18	0.14
<b>RM (%MVC)</b>	25.26(18.86)	23.93(13.02)		22.42(12.82)	33.38(34.36)		27.34(12.51)	30.07(12.59)	
<b>LT (%MVC)</b>	34.28(11.54)	28.93(9.38)		35.48(12.14)	37.60(16.49)		27.87(15.61)	31.39(13.47)	
<b>LM (%MVC)</b>	23.86(10.23)	23.29(5.42)		22.55(10.45)	26.89(14.68)		23.94(12.99)	25.78(10.09)	
<b>Arm elevation</b>									
<b>UT (%MVC)</b>	36.22(10.35)	36.51(8.74)		35.03(10.46)	28.12(12.63)		38.40(15.59)	32.57(11.55)	

Table 2. Anova test values. Pre and post treatment comparison of the masticatory muscles in rest position and during chewing and of the upper trapezius muscle during arm elevation.

\*Significant statistical difference.

$\eta_p^2$ : Partial eta squared.

Sample description is shown in Table 3. Initially, the effect of sex on the salivary concentration of dopamine at baseline was evaluated. Dopamine had a significant effect was observed (Manova, p-value = 0.03, partial square Eta = 0.182), and this factor should be controlled in the subsequent analysis

Table 3 also shows the results of the ANOVA three-way mixed model for salivary dopamine.

Table 3. Characteristics of the sample and effect of time and group on dopamine and salivary.

		n	Age (yaer)	Dopamine salivary
				<i>Mens (SD)</i>
<b>Pré-treatment</b>	<i>G1</i>	10	<b>6-8</b>	<b>7</b>

	<i>G2</i>	10	<b>6-8</b>	7
	<i>G3</i>	10	<b>6-8</b>	7
	<i>G1</i>	10	<b>6-8</b>	<b>7</b>
<b><i>Post-treatment</i></b>	<i>G2</i>	10	<b>6-8</b>	7
	<i>G3</i>	10	<b>6-8</b>	7
				<b>p-value (test power)</b>
<i>Time effect</i>				0,462 (0,11)
<i>Interaction effect time * group</i>				0,201 (0,33)
<i>Effect of interaction time * sex</i>				0,351 (0,15)

SD, standard deviation

No time effect was observed for salivary dopamine in any of the groups, and salivary dopamine concentration did not differ after treatment in the three groups (G1, G2, G3). There was also no difference in concentrations between groups ( $p > 0.05$ ).

## Discussion

The results obtained demonstrated an improvement in muscle activity as efficient as the use of rigid occlusal splints. This corroborates with the study by Kuhn M. et. al, 2018[16], which initially emphasizes risk factors in patients with bruxism, which in children and adolescents cause beyond suffering, behavioral abnormalities and sleep disorders predominated. In the review, although many of the variables described can not be influenced by prophylactic or therapeutic means, a patient-centered approach is recommended, aiming at self-observation, muscle relaxation, and stabilization by means of a Michigan plate established as a gold standard.

In the literature, alternative therapies are studied beyond the established gold standard. Other suggested treatments for sleep bruxism in children are medicaments such as buspirone [17], fluoxetine [18] and diazepam [19]. All observe an inefficacy of the pharmacology employed, in addition to highlighting all the adverse effects that accompany given the administration. The present study aimed successfully to evaluate the parameters against a non-pharmacological therapy, without the adverse effects that accompany such drugs with positive results in relation to muscle activity.

Other non-pharmacological methods have also been studied for bruxism. It was the case of methods used in physiotherapy, such as muscle massage, which improved muscular pain and activity, mouth opening, oral health, anxiety, stress, depression, temporomandibular dysfunction and head posture in individuals with bruxism [20]. However, Gouw S et al (2018) concluded that static stretching of masticatory muscles resulted in a small increase in episodes

of (non-significant) sleep bruxism and (significant) bursts of sleep. Therefore, masticatory muscle elongation was not effective in reducing sleep bruxism in the absence of pain and / or dysfunction [21].

In odontology clinical evaluation, EMG activity was evaluated in studies with patients with bruxism treated with orthodontic aligners, although in spite of being an intraoral device, as well as the rigid occlusal splints, no significant difference was observed in the EMG signal [22,23].

The importance of utilizing parameters related to muscle activity to evaluate the different therapies, as addressed in the methodology of this study, is justified by literature review [24], in which it can be concluded that bruxism is associated to certain musculoskeletal symptoms, although the evidence is conflicting and depends on some factors, such as age, whether bruxism occurs during sleep or wakefulness, and also the quality of the diagnosis. The literature does not support a direct linear causal relationship between bruxism and such symptoms, but points more toward a multifaceted relationship dependent on the presence of other risk factors. Pain is the most commonly evaluated symptom, while non-painful musculoskeletal symptoms have generally not been systematically assessed. In light of recent findings indicating that non-painful symptoms may precede TMD pain, it is suggested to increase the scientific focus on non-painful musculoskeletal symptoms in future studies. In addition, future studies should use validated methods for case definition and outcome assessments.

Parameters that evaluate the efficiency of photobiomodulation in children with sleep bruxism has not yet been studied in literature. However, this therapy was evaluated in other muscle disorders such as temporomandibular (TMD) and obtained good results. In a single combined phototherapy session, it was able to reduce the intensity of pain in individuals with TMD. Photobiomodulation combining two light sources (LED and laser) and different densities in the same device has proved to be a novelty in the rehabilitation market and has proved to be a useful intervention for people with temporomandibular disorders. This mode of photobiomodulation is another option that assists in the rapid intervention of pain symptoms, promoting a considerable degree of patient comfort moments after its application [25].

Although the rigid occlusal plaque is considered the gold standard, the difficulty in collaborating with the use of rigid occlusal plaques by children is still a challenge in clinical practice, and therefore the search for new alternative therapies is necessary. SB may be associated with a negative impact on sleep quality and sleep quality. Determine that SB can play a significant role in sleep quality and OHRQoL is important for dental professionals.

Although it has already been quantified through its salivary levels (Kang et al., 2014), the present study does not corroborate the results, since in the dopamine results no differences were observed in the quantification of dopamine levels between the groups . It is well known that one of the influences on the physiological mechanism of the secretion of this neurotransmitter acts in conjunction with the adrenergic mechanism, that is, it is triggered from a stressor stimulus. From these results, we suggest assessing dopamine levels from higher anxiety levels or patients with bruxism when considered a risk factor: bruxism exists and is associated with one or more negative health outcomes or a protective factor: bruxism exists and is associated with one or more positive health outcomes.

## **Conclusion**

According to the findings of the present study, it can be concluded that infrared LED photobiomodulation therapies had the same effect on muscle activity as the rigid occlusal plate, consecrated by the literature as gold standard treatment, in the immediate post-treatment evaluation, be considered as a low-cost, easy-to-apply option with similar effects to the gold standard.

Regarding salivary dopamine levels, the results showed no differences between the groups. It is suggested an investigation in patients classified as having bruxism when considered a risk factor: bruxism exists and is associated with one (eg TMD) or with bruxism presenting negative health outcomes or a protection factor: bruxism exists and is associated to one or more positive health outcomes. (eg, apnea).

## **References**

1. Lobbezoo F, Ahlberg J, Raphael KG, Wetselaar P, Glaros AG, Kato T, Santiago V, Winocur E, De Laat A, De Leeuw R, Koyano K, Lavigne GJ, Svensson P, Manfredini D. International consensus on the assessment of bruxism: Report of a work in progress. *J Oral Rehabil*. 2018 Nov;45(11):837-844. doi: 10.1111/joor.12663. Epub 2018 Jun 21.
2. Wieckiewicz M, Paradowska-Stolarz A, Wieckiewicz W. Psychosocial aspects of bruxism: the most paramount factor influencing teeth grinding. *Biomed Res Int*. 2014;2014:469187. doi: 10.1155/2014/469187. Epub 2014 Jul 13.

3. Takemura T, Takahashi T, Fukuda M, Ohnuki T, Asunuma T, Masuda Y, Kondoh H, Kanbayashi T, Shimizu T. A psychological study on patients with masticatory muscle disorder and sleep bruxism. *Cranio*. 2006 Jul;24(3):191-6.
4. Kupper N, Gidron Y, Winter J, Denollet J. Association between type D personality, depression, and oxidative stress in patients with chronic heart failure. *Psychosom Med*. 2009 Nov;71(9):973-80. doi: 10.1097/PSY.0b013e3181bee6dc. Epub 2009 Oct 15.
5. Rodríguez Cerdeira C, Sánchez-Blanco E, Sánchez-Blanco B, González-Cespón JL; Working Group of IISGS. Protein biomarkers of mood disorders. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2017 Mar;30(1):7-12. doi: 10.1177/0394632016681017. Epub 2017 Jan 24.
6. Kang WY, Yang Q, Jiang XF, Chen W, Zhang LY, Wang XY, Zhang LN, Quinn TJ, Liu J, Chen SD. Salivary DJ-1 could be an indicator of Parkinson's disease progression. *Front Aging Neurosci*. 2014 Jun 6;6:102. doi: 10.3389/fnagi.2014.00102. eCollection 2014.
7. Yang J, Qi M, Guan L, Hou Y, Yang Y. The time course of psychological stress as revealed by event-related potentials. *Neurosci Lett*. 2012 Nov 14;530(1):1-6. doi: 10.1016/j.neulet.2012.09.042. Epub 2012 Sep 29.
8. Boone JL, Anthony JP. Evaluating the impact of stress on systemic disease: the MOST protocol in primary care. *J Am Osteopath Assoc*. 2003 May;103(5):239-46.
9. Marker RJ, Stephenson JL, Kluger BM, Curran-Everett D, Maluf KS. Modulation of intracortical inhibition in response to acute psychosocial stress is impaired among individuals with chronic neck pain. *J Psychosom Res*. 2014 Mar;76(3):249-56. doi: 10.1016/j.jpsychores.2013.12.001. Epub 2013 Dec 12.
10. Endo H, Kanemura K, Tanabe N, Takebe J. Clenching occurring during the day is influenced by psychological factors. *J Prosthodont Res*. 2011 Jul;55(3):159-64. doi: 10.1016/j.jpor.2010.11.003. Epub 2011 Feb 5.
11. Knutson GA. Vectored upper cervical manipulation for chronic sleep bruxism, headache, and cervical spine pain in a child. *J Manipulative Physiol Ther*. 2003 Jul-Aug;26(6):E16.

12. Murali RV, Rangarajan P, Mounissamy A. Bruxism: Conceptual discussion and review. J Pharm Bioallied Sci. 2015 Apr;7(Suppl 1):S265-70. doi: 10.4103/0975-7406.155948.
13. Huang YF, Lin JC, Yang HW, Lee YH, Yu CH. Clinical effectiveness of laser acupuncture in the treatment of temporomandibular joint disorder. J Formos Med Assoc. 2014 Aug;113(8):535-9. doi: 10.1016/j.jfma.2012.07.039. Epub 2012 Aug 29.
14. da Silva MM, Albertini R, Leal-Junior EC, de Tarso Camillo de Carvalho P, Silva JA Jr, Bussadori SK, de Oliveira LV, Casarin CA, Andrade EL, Bocalini DS, Serra AJ. Effects of exercise training and photobiomodulation therapy (EXTRAPHOTO) on pain in women with fibromyalgia and temporomandibular disorder: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2015 Jun 4;16:252. doi: 10.1186/s13063-015-0765-3.
15. Lakens D. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. Front Psychol. 2013;863(4):1–12.
16. Kuhn M<sup>1</sup>, Türp JC<sup>1</sup>. Risk factors for bruxism. Swiss Dent J. 2018 Feb 12;128(2):118-124.
17. Sağlam E, Akça ÖF. Treatment of Sleep Bruxism With a Single Daily Dose of Buspirone in a 7-Year-Old Boy. Clin Neuropharmacol. 2019 May 30. doi: 10.1097/WNF.0000000000000350. [Epub ahead of print]
18. Akbaş B, Bilgiç A. Fluoxetine-Induced Sleep Bruxism Rapidly Treated With Once-Nightly Dosing of Buspirone in a 6-Year-Old Girl. Clin Neuropharmacol. 2018 Sep/Oct;41(5):197-198. doi: 10.1097/WNF.0000000000000293.
19. Mostafavi SN, Jafari A, Hoseini SG, Khademian M, Kelishadi R. The efficacy of low and moderate dosage of diazepam on sleep bruxism in children: A randomized placebo-controlled clinical trial. J Res Med Sci. 2019 Jan 31;24:8. doi: 10.4103/jrms.JRMS\_131\_18. eCollection 2019.
20. Amorim CSM, Espirito Santo AS, Sommer M, Marques AP. Effect of Physical Therapy in Bruxism Treatment: A Systematic Review. J Manipulative Physiol Ther. 2018 Jun;41(5):389-404. doi: 10.1016/j.jmpt.2017.10.014.
21. Gouw S<sup>1</sup>, de Wijer A<sup>1</sup>, Kalaykova SI<sup>1</sup>, Creugers NHJ<sup>1</sup>. Masticatory muscle stretching for the management of sleep bruxism: A randomised controlled trial. J Oral Rehabil. 2018 Oct;45(10):770-776. doi: 10.1111/joor.12694. Epub 2018 Aug 13.
22. Castroflorio T, Bargellini A, Lucchese A, Manuelli M, Casasco F, Cugliari G, Cioffi I, Deregibus A. Effects of clear aligners on sleep bruxism: randomized controlled trial. J Biol Regul Homeost Agents. 2018 Mar-Apr;32(2 Suppl. 2):21-29.
23. Manfredini D, Lombardo L, Vigiani L, Arreghini A, Siciliani G. Effects of invisible orthodontic retainers on masticatory muscles activity during sleep: a controlled trial. Prog Orthod. 2018 Jul 23;19(1):24. doi: 10.1186/s40510-018-0228-y.
24. Baad-Hansen L, Thymi M, Lobbezoo F, Svensson P. To what extent is bruxism associated with musculoskeletal signs and symptoms? A systematic review. J Oral Rehabil. 2019 May 15. doi: 10.1111/joor.12821. [Epub ahead of print]

25. Herpich CM<sup>1</sup>, Leal-Junior ECP<sup>1</sup>, Gomes CAF<sup>2</sup>, Gloria IPDS<sup>1</sup>, Amaral AP<sup>1</sup>, Amaral MFRS<sup>1</sup>, Politti F<sup>1</sup>, Biasotto-Gonzalez DA<sup>1</sup>. Immediate and short-term effects of phototherapy on pain, muscle activity, and joint mobility in women with temporomandibular disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Disabil Rehabil.* 2018 Sep;40(19):2318-2324. doi: 10.1080/09638288.2017.1336648. Epub 2017 Jun 11.

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com os achados do presente estudo, pode-se concluir que a resposta local na atividade muscular frente à fotobiomodulação com LED infravermelho obteve o mesmo efeito que a placa rígida oclusal, consagrada pela literatura como tratamento padrão ouro, na avaliação imediata pós-tratamento, podendo ser levada em consideração como uma opção de baixo custo, fácil aplicação e com efeitos similares ao padrão-ouro.

Em relação à avaliação sistêmica dos níveis de dopamina salivar, os resultados não apresentaram diferenças entre os grupos.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sleep related bruxism. In: International classification of sleep disorders. 3rd ed. Darien, IL.: American Academy of Sleep Medicine; 2014
2. Bader G, Lavigne G. Sleep bruxism: an overview of an oromandibular sleep movement disorder. *Sleep Med Reviews*. 2000;4:27-43.
3. Aloé F, Gonçalves LR, Azevedo A, Barbosa RC. Bruxismo durante o sono. *Rev Neurociências*. 2003;11(1):4-17.
4. Motta LJ, Bortoletto CC<sup>1</sup>, Marques AJ, Ferrari RA, Fernandes KP, Bussadori SK. Association between respiratory problems and dental caries in children with bruxism. *Indian J Dent Res*. 2014 Jan-Feb;25(1):9-13. doi: 10.4103/0970-9290.131047.
5. Bortoletto CC, Cordeiro da Silva F, Silva PF, Leal de Godoy CH, Albertini R, Motta LJ, Mesquita-Ferrari RA, Fernandes KP, Romano R, Bussadori SK. Evaluation of Cranio-cervical Posture in Children with Bruxism Before and After Bite Plate Therapy: A Pilot Project. *J Phys Ther Sci*. 2014 Jul;26(7):1125-8.
6. De Boever JÁ, Steenks MH. Epidemiologia, sintomatologia e etiologia da disfunção craniomandibular. In: STEENKS, M.H. & WIJER, A. Disfunção da articulação temporomandibular do ponto de vista da fisioterapia e da odontologia- diagnóstico e tratamento. Tradução de Hildegard Thiemann Buckup. São Paulo, Santos, 1996.p.35-43.
7. Rodrigues CK, Ditterich RG, Shintcowsk RL, Tanaka O. Bruxismo: uma revisão da literatura. *Ci Biol Saúde UERG*. Set 2006;12(3):13-21.
8. Lavigne GJ, Rompe RH, Montplaisir JY. Sleep bruxism: validity of clinical research diagnostic criteria in a controlled polysomnographic study. *J Dent Res*. 1996;75(1):546-55.
9. Kato T, Montplaisir JY, Guitard F, Sessle BJ, Lund JP, Lavigne GJ. Evidence that experimentally induce sleep bruxism is a consequence of transient arousal. *J Dent Res*. 2003;82:284-8.
10. Tsukiyama Y, Baba K, Clark GT. An evidence-based assessment of occlusal adjustment as a treatment for temporomandibular disorders. *J Prosthet Dent*. 2001;86(1):57-66.
11. Lobbezoo F, Zaag JUD, Naeije M. Bruxism: its multiple causes and its effects on dental implants - an updated review. *J Oral Rehabil*. 2006;33(4):293-300.
12. Kato T, Thie NMR, Montplaisir JY, Lavigne GJ. Bruxism and orofacial movements during sleep. *Dent Clin North Am*. 2001;45(4):657-84.
13. Glaros AG, Forbes M, Shanker J, Glass EG. Effect of parafunctional clenching on temporomandibular disorder pain and proprioceptive awareness. *Cranio*. 2000 Jul;18(3):198-204.
14. Barbosa TS, Miyakoda LS, Poczta RL, Rocha CP. Temporomandibular disorders and bruxism in children and adolescence. review of the literature. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2008;72:290-314.
15. Motta LJ, Guedes CC, De Santis TO, Fernandes KP, Mesquita-Ferrari RA, Bussadori. SK. Association between parafunctional habits and signs and symptoms of temporomandibular dysfunction among adolescents. *Oral Health Prev Dent*. 2013;11(1):3-7. doi: 10.3290/j.ohpd.a29369.
16. Quintero Y, Restrepo CC, Tamayo V, et al. Effect of awareness through movement on the head posture of bruxist children. *J Oral Rehab*. 2009;36:18-25.
17. Pellizzer EP, Muench A. Forças de mordida relacionadas a próteses removíveis inferiores. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1997.
18. Paula LV. Estudo longitudinal da força de mordida de indivíduos dentados e edentados reabilitados com próteses convencionais e implanto-suportadas. São Paulo: Universidade de

São Paulo; 1998.

19. Amanto JN, Tuon RA, Castelo PM, Gavião MB, Barbosa T de S. Assessment of sleep bruxism, orthodontic treatment need, orofacial dysfunctions and salivary biomarkers in asthmatic children. *Arch Oral Biol.* 2015 May; 60(5):698-705. doi:10.1016/j.archoralbio.2015.02.011. Epub 2015 Feb 20.
20. McCartan B.E., Lamey P.J., Wallace A.M. Salivary cortisol and anxiety in recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*; 25: 357-359, 1996.
21. Bruce J, Davis EP, Gunnar MR - Individual differences in childrens cortisol response to the beginning of a new school year. *Psychoneuroendoc.* 2002 ago; 27(6):635-50.
22. Gunnar MR, Donzella B - Social regulation of the cortisol levels in early human development. *Psychoneuroendoc.* 2002 jan-Fev; 27(1-2):199-220.
23. Silva ML, Mallozi MC, Ferrari GF. Salivary cortisol to assess the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in healthy children under 3 years old. *J Pediatr.* 2007; 83(2):121-6.
24. Manfredini D, Restrepo C, Diaz-Serrano K, Winocur E, Lobbezoo F. Prevalence of sleep bruxism in children: A systematic review of the literature. *J Oral Rehabil.* 2013; 40:631-342.
25. Santos MJP, Bernabé DG, Nakamune ACMS, Perri SHV, Aguiar SMHCA, Oliveira SHP. Salivary alpha amylase and cortisol levels in children with global developmental delay and their relation with the expectation of dental care and behavior during the intervention. *Res Develop Disabil.*, 2012; 33(2):499-505.
26. Raphael KG, Marbach JJ, Klausnerr JJ, Teaford MF. Is bruxism severity a predictor of oral splint efficacy in patients with myofascial face pain? *J Oral Rehabil.* 2003; 30(1):17-29.
27. Serra Negra JM, Paiva SM, Fulgencio LB et al. Environmental factors, sleep duration, and sleep bruxism in Brazilian schoolchildren: a case control study *Sleep Med.* 2014 Feb; 2014(2):236-9.
28. Lobbezoo F, Ahlberg J, Glaros AG, Kato T, Koyano K, Lavigne G, et al. Bruxism defined and graded: an international consensus. *J Oral Rehab* 2013; 40:2-4.
29. Silva ML, Mallozi MC, Ferrari GF. Salivary cortisol to assess the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in healthy children under 3 years old. *J Pediatr.* 2007; 83(2):121-6.
30. Dallanora LJ, Faltin PP, Inoue Rt, Aranha dos Santos VM, Tanaka J. Avaliação do uso de acupuntura no tratamento de pacientes com bruxismo. *RGO*, 52(5): 333-9 nov/dez 2004.
31. Rosted P. The use of acupuntura in dentistry: a review of scientific validity of published papers. *Oral Dis.* 4(2): 100-4, 2000.
32. Magro KO, Hirschfeld GCR, Campolongo GD, Barros TEP. Acupuntura: tratamento alternativo nas dores orofaciais. Disponível em [http://www.unidor.com.br/publi/Acupuntura\\_DOE.pdf](http://www.unidor.com.br/publi/Acupuntura_DOE.pdf)
33. Wen TS. Acupuntura clássica chinesa. São Paulo: Cultrix; 1989.
34. Jaggar D. History and basic introduction to veterinary acupuntura. *Probl Vet Med.* 1992; 4(1):13-5.
35. Bauer J. Acupuntura. In: Barros JJ, Tratamento das disfunções craniomandibulares, ATM. São Paulo: Santos, 1995. Cap 17, p. 175-82.
36. Wu DZ. Acupuntura and neurophysiology. *Clin Neurol Neurosurg.* 1990; 92(1): 13-25.
37. Farber PL, Timo-Laria C. Acupuntura e sistema nervoso. *J Bras Med* 1994; 67(5/6): 125-31.
38. Carlsson GE, Egermark I, magnusson T. Predictors of bruxism, other oral parafunctions, and tooth wear over a 20-year follow-up period. *J Orofac Pain.* 2003; 17(1): 50-7.
39. Wen, Tom Sintan. Acupuntura clássica chinesa. São Paulo: Cultrix, 2006 p.15-17.
40. Epelbaum E. tratamento da deficiência neurosensorial por laser em baixa potência e sua

- associação a acupuntura a laser. 2007. 74f. Dissertação – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
41. King CE et al. Effect of Helium-Neon laser auriculotherapy on experimental pain threshold. *Phys Ther.* 1990; 70(1): 38-44.
  42. Siedentopf CM et al. Laser acupuncture induced specific cerebral cortical and subcortical activations in humans. *Lasers in medical Science* 2005; 20:68-73.
  43. Emodi-Perlman A, Eli I, Friedman-Rubin P, Goldsmmith C, Reiter S, Winocur E. Bruxism, oral parafunctions, anamnestic and clinical findings of temporomandibular disorders in children. *J Oral Rehabil.* 2012; 39(2):126-35.
  44. Venezian GC, Silva MAMR, Mazzetto RG, Mazzeto MO. Low level laser effects on pain to palpation and eletromyographic activity in TMD patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Craniomand Pract.* 2010;28(2):84-91.
  45. Rosa RS, Cury AAB, Garcia RCMR. Terapias alternativas para desordens temporomandibulares. *Rev Odonto Ciencia - Fac Odonto/PUCRS.* 2002;17(36):187-92.
  46. Hachmann A, Martins EA, Araujo FB, Nunes R. Efficacy of the nocturnal bite plate in the control of bruxism for 3 to 5 year old children. *J Clin Pediatr Dent.* 1999 Fall;24(1):9-15.
  47. Solberg WK, Clark GT, Rugh JD. Nocturnal electomyohraphic evaluation of bruxism patients undergoing short term splint therapy. *J Oral Rehabil.* 2007;2:215-23.104 (3):32-9, 2007.
  48. McLean L, Chislett M, Keit M, Murphy M, Walton P. The effect of head position, electrode site, movement and smoothing window in the determination of a reliable maximum voluntary activation of the upper trapezius muscle. *J Electromiogr and Kinesiol.* v. 13, p. 169-80, 2003.
  49. Lucas BL, Barbosa TS, Pereira LJ, Gavião MB, Castelo PM. Eletromyographic evaluation of masticatory muscles at rest and maxiamal intercuspal positions of the mandibule in children with sleep bruxism. *Eur Arch Pediatr Dent.* 2014,v.15,4,p.269-274.
  50. Carvalho CM, Lacerda JÁ, Neto FPS, Cangussu MCT, Marques AMC, Pinheiro ALB. Wavelength effect in temporomandibular joint pain: a clinical experience. *Lasers Med Sci.* 2010; 25: 229-32.
  51. Serra-Negra JM, Paiva SM, Seabra AP, Dorella C, Lemos BF, Pordeus IA. Prevalence os sleep bruxism in a group of Brazilian schoolchildren. *Eur Arch Pediatr Dent.* 2010; 11(4):192-5.
  52. Falla D, Arendt-Nielsen L, Farina, D. The pain-induced change in relative activation of upper trapezius muscle regions is independent of the site of noxious stimulation. *Clin Neurophysiol.* 120 (2009) 150–157
  53. Tartaglia GM, Rodrigues Moreira, da Silva MA, Bottini S, Sforza C. Masticatory muscle activity during maximum voluntary clench in different research diagnostic criteria for temporomandibular disorders (RDC/TMD) groups. *Man Ther.* 2008;13: 434–40.).
  54. Ferrario VF, Sforza C, Colombo A, Ciusa V. An electromyographic investigation of masticatory muscles symmetry in normo-occlusion subjects. *J Oral Rehab.* 2000;27:33-40.
  55. Tartaglia GM, Lodetti G, Paiva G.D, Felicio CM, Sforza C. Surface eletromyography assessment of patients wuth long lasting temporomandibular joit disorder pain. *J Electromyography assessment of patients with long lasting temporomandibular joint disorder*

pain. *J Electromyogr Kinesiol* 2011;21: 659-64.

56. Moyers RE. Etiologia da Maloclusão. In: Moyers RE. *Ortodontia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 1991: 157-59/212-37.59.

57. Kato MT, Kogawa EM, Santos CN, Conti PCR. TENS and low-level laser therapy in the management of temporomandibular disorders. *J Appl Oral Sci*. 2006; 14 (2): 130-135.

58. Marini I, Gatto MR, Bonetti GA. Effects of superpulsed low-level laser therapy on temporomandibular joint pain. *Clin J Pain*. 2010; 26 (7): 611-616. ///

59. Andrade TNC, Frare JC. Estudo comparativo entre os efeitos de técnicas de terapia manual isoladas e associadas à laserterapia de baixa potência sobre a dor em pacientes com disfunção temporomandibular. *Rev Gauch Odontol*. 2008; (3): 287-295.

60. Available from: [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org) (CONSORT)

61. Carra MC, Bruni O, Huynh N. Topical review: sleep bruxism, headaches, and sleep-disordered breathing in children and adolescents. *J Orofac Pain* 2012 Fall, 26(4):267-76

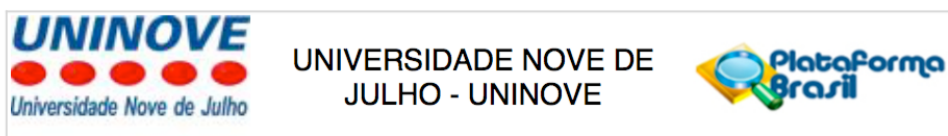
62. Keskinruzgar A, Kucuk AO, Yavuz GY, Koparal M, Caliskan ZG, Utkun M. Comparison of kinesio taping and occlusal splint in the management of myofascial pain in patients with sleep bruxism. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2019;32(1):1-6. doi: 10.3233/BMR-181329.

63. Baad-Hansen L, Thymi M, Lobbezoo F, Svensson P. To what extent is bruxism associated with musculoskeletal signs and symptoms? A systematic review. *J Oral Rehabil*. 2019 May 15. doi: 10.1111/joor.12821. [Epub ahead of print]

64. Flueraşu MI, Bocsan IC, Buduru S, Pop RM, Vesa SC, Zaharia A, Negucioiu M, Iacob SM. The correlation between sleep bruxism, salivary cortisol, and psychological status in young, Caucasian healthy adults. *Cranio*. 2019 May 27:1-7. doi: 10.1080/08869634.2019.1619250. [Epub ahead of print].

65. Sağlam E, Akça ÖF. Treatment of Sleep Bruxism With a Single Daily Dose of Buspirone in a 7-Year-Old Boy. *Clin Neuropharmacol*. 2019 May 30. doi: 10.1097/WNF.0000000000000350. [Epub ahead of print]
66. Mostafavi SN, Jafari A, Hoseini SG, Khademian M, Kelishadi R. The efficacy of low and moderate dosage of diazepam on sleep bruxism in children: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J Res Med Sci*. 2019 Jan 31;24:8. doi: 10.4103/jrms.JRMS\_131\_18. eCollection 2019.
67. Amorim CSM, Espirito Santo AS, Sommer M, Marques AP. Effect of Physical Therapy in Bruxism Treatment: A Systematic Review. *J Manipulative Physiol Ther*. 2018 Jun;41(5):389-404. doi: 10.1016/j.jmpt.2017.10.014.
68. Akbaş B, Bilgiç A. Fluoxetine-Induced Sleep Bruxism Rapidly Treated With Once-Nightly Dosing of Buspirone in a 6-Year-Old Girl. *Clin Neuropharmacol*. 2018 Sep/Oct;41(5):197-198. doi: 10.1097/WNF.0000000000000293.
69. Castroflorio T, Bargellini A, Lucchese A, Manuelli M, Casasco F, Cugliari G, Cioffi I, Deregibus A. Effects of clear aligners on sleep bruxism: randomized controlled trial. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2018 Mar-Apr;32(2 Suppl. 2):21-29.
70. Kuhn M, Türp JC. Risk factors for bruxism. *Swiss Dent J*. 2018 Feb 12;128(2):118-124.
71. Manfredini D, Lombardo L, Vigiani L, Arreghini A, Siciliani G. Effects of invisible orthodontic retainers on masticatory muscles activity during sleep: a controlled trial. *Prog Orthod*. 2018 Jul 23;19(1):24. doi: 10.1186/s40510-018-0228-y.
72. Gouw S<sup>1</sup>, de Wijer A<sup>1</sup>, Kalaykova SI<sup>1</sup>, Creugers NHJ<sup>1</sup>. Masticatory muscle stretching for the management of sleep bruxism: A randomised controlled trial. *J Oral Rehabil*. 2018 Oct;45(10):770-776. doi: 10.1111/joor.12694. Epub 2018 Aug 13.
73. Câmara-Souza MB<sup>1</sup>, de Figueredo OMC<sup>1</sup>, Rodrigues Garcia RCM<sup>2</sup>. Association of sleep bruxism with oral health-related quality of life and sleep quality. *Clin Oral Investig*. 2019 Jan;23(1):245-251. doi: 10.1007/s00784-018-2431-0. Epub 2018 Mar 27.
74. Herpich CM<sup>1</sup>, Leal-Junior ECP<sup>1</sup>, Gomes CAF<sup>2</sup>, Gloria IPDS<sup>1</sup>, Amaral AP<sup>1</sup>, Amaral MFRS<sup>1</sup>, Politti F<sup>1</sup>, Biasotto-Gonzalez DA<sup>1</sup>. Immediate and short-term effects of phototherapy on pain, muscle activity, and joint mobility in women with temporomandibular disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Disabil Rehabil*. 2018 Sep;40(19):2318-2324. doi: 10.1080/09638288.2017.1336648. Epub 2017 Jun 11.
75. Sattayut S<sup>1</sup>, Bradley P<sup>2</sup>. A study of the influence of low intensity laser therapy on painful temporomandibular disorder patients. *Laser Ther*. 2012 Sep 30;21(3):183-92. doi: 10.5978/islm.12-OR-09. Epub 2012 Aug 13.

## APÊNDICE 1



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MUSCULAR, FORÇA DE MORDIDA E CORTISOL SALIVAR EM CRIANÇAS COM BRUXISMO ANTES E APÓS O USO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA EM ACUPONTOS-ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO;

**Pesquisador:** Mônica da Consolação Canuto Salgueiro

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 49730215.2.0000.5511

**Instituição Proponente:** ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

**Patrocinador Principal:** ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.333.636