



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

**SILVANA MACHADO ORTEGA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO DA FOTOBIMODULAÇÃO APÓS  
A INSTALAÇÃO DE SEPARADORES ELASTOMÉRICOS. ENSAIO CLÍNICO  
CONTROLADO RANDOMIZADO.**

**São Paulo, SP**

**2020**



**SILVANA MACHADO ORTEGA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO DA FOTOBIMODULAÇÃO APÓS  
A INSTALAÇÃO DE SEPARADORES ELASTOMÉRICOS. ENSAIO CLÍNICO  
CONTROLADO RANDOMIZADO.**

Dissertação apresentada a Universidade Nove de Julho, para Obtenção do título de mestre em Biofotônica aplicada a Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Kalil Bussadori

**São Paulo**

**2020**

Ortega, Silvana Machado Ortega.

Avaliação do efeito analgésico da fotobiomodulação após a instalação de separadores elastoméricos. Ensaio clínico controlado randomizado. / Silvana Machado Ortega. 2020.

45 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2020.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Kalil Bussadori.

1. Dor. 2. Fotobiomodulação. 3. Ortodontia. 4. Separadores elastoméricos.

I. Bussadori, Sandra Kalil.

II. Título.

CDU 615.831

Sao Paulo, 18 de fevereiro de 2020

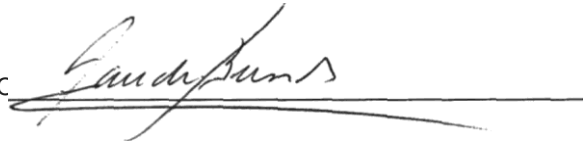
TERMO DE APROVACAO

Aluno (a). Silvana Machado Ortega

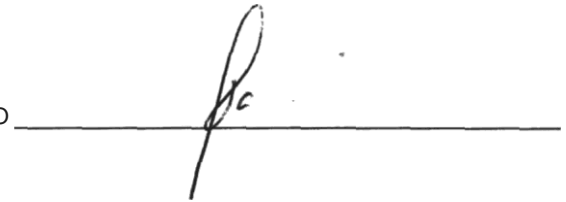
---

Titulo da Dissertação: "Avaliação do uso da fotobiomodulação após instalação de separadores elastoméricos. Ensaio clínico controlado randomizado"

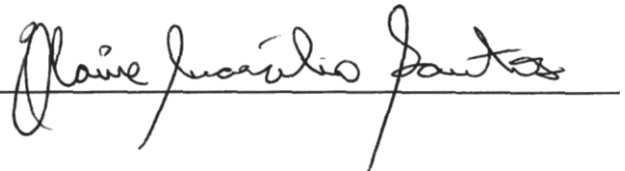
Presidente: PROF°. DR°. SANDRA KALIL BUSSADC



Membro: PROFª. DRª. LARA JANSISKI MOTTA GODINHO



Membro: PROFª DRª ELAINE MARCILIO SANTO



## DEDICATÓRIA

À minha saudosa mãe tão querida e amada Maria Aparecida Machado Ortega.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Francisco Ortega Dias e Maria Aparecida Machado Ortega obrigada pela vida que me deram e o apoio que me deram e ainda me dão até hoje. A minha querida irmã Adriana Machado Ortega de Carvalho pelo apoio.

Sem vocês eu nada seria.

À minha querida orientadora Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori pela paciência, compreensão, orientação e amizade.

Aos meus queridos professores do curso Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos, Profa. Dra. Daniela de Fátima Teixeira da Silva, Profa. Dra. Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana e Profa. Dra. Lara Jansisk Motta.

Aos amigos Edson Peres Sinnes, Antônio Wilson Pereira e Nelson Marcatto, amigos para sempre.

Obrigada por tudo.

À minha querida Profa. Dra. Silvia Oliven por toda a ajuda na realização do trabalho e na confecção dos artigos. Ao Prof. Dr. Alessandro Melo Deana por toda a ajuda na análise estatística do trabalho.

E não poderia deixar de agradecer às minhas amigas Vanessa Dalapria, Grazielle Rodrigues, Yose Marie Elizabeth e Silva, amigas de profissão e de mestrado. Juntas, vivemos cada etapa

deste mestrado.

Agradeço à Universidade Nove de Julho e ao Departamento de Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde pela oportunidade concedida para a realização do Doutorado.

## **RESUMO**

A dor decorrente da colocação de separadores elastoméricos e da troca de fios e acessórios é a maior razão para o abandono do tratamento ortodôntico. De fato, o desconforto relacionado ao tratamento exerce um impacto negativo na qualidade de vida devido à dificuldade de mastigar e morder. Este estudo propõe avaliar os efeitos analgésicos da fotobiomodulação (FBM) em indivíduos submetidos a tratamento ortodôntico. A amostra foi composta por indivíduos que receberam separadores elastoméricos nas faces mesial e distal dos primeiros molares. Os pacientes foram alocados aleatoriamente em dois grupos: um grupo experimental, irradiado com laser em baixa intensidade (LBI), e um grupo placebo submetido a irradiação simulada a laser. Após a colocação dos separadores, o grupo experimental recebeu uma única aplicação de LBI na porção cervical mesial e distal e no terço apical dos molares. A dor percebida foi analisada após uma hora usando a escala visual analógica (EVA) nos dois grupos. Os pacientes assinaram o termo de consentimento informado (TCLE) e de assentimento (TA). A análise estatística foi realizada com Mann Whitney, teste exato de Fisher e Qui-quadrado. A expectativa era de que os pacientes do grupo irradiado tivessem uma menor percepção de dor em comparação aos do grupo simulado. O objetivo do estudo foi estabelecer um método eficaz para PBM com o uso do laser em baixa intensidade infravermelho (Ga-Al-As com comprimento de onda de 808 nm e potência de saída de 100 mW) para redução da dor relacionada ao tratamento ortodôntico.

**Palavras chave:** Dor, Fotobiomodulação, Ortodontia, Separadores elastoméricos.

## **ABSTRACT**

Pain stemming from the placement of elastomeric separators and the exchanging of wires and accessories is the greatest reason for abandoning orthodontic treatment. Indeed, discomfort related to treatment exerts a negative impact on quality of life due to the difficulty chewing and biting. This paper proposes to evaluate the analgesic effects of photobiomodulation (PBM) on individuals undergoing orthodontic treatment. The sample was composed of individuals who receiving elastomeric separators on the mesial and distal face of the first molars. The patients were randomly allocated to two groups: an experimental group irradiated with low-level laser (LLL) and a sham group submitted to simulated laser irradiation. Upon the placement of the separators, the experimental group were receive a single application of LLL on the mesial and distal cervical portion and apical third of the molars. Perceived pain were analyzed after one hour using the visual analog scale in both groups. The patients were sign a statement of informed consent and assentment. Statistical analysis were performed with the Mann - Whitney, test exact Fisher and Qui-quadrado. The expectation was that the patients in the irradiated group have been a lower perception of pain compared to those in the sham group. The purpose of the study was to establish an effective method for PBM with the use of low level infrared laser (Ga-Al-As with a wavelength of 808 nm and output power of 100 mW) for reductions in pain related to orthodontic treatment.

**Keys word:** Pain, photobiomodulation, orthodontics, elastomeric separators.



## SUMARIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO .....	12
1.1. Justificativa.....	15
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Principal .....	15
2.2. Hipótese .....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	16
3.1. Tipo do estudo.....	16
3.2. Registro do estudo .....	16
3.3. Cálculo amostral.....	16
3.4. Randomização dos pacientes .....	17
3.5. Critérios de inclusão.....	17
3.6. Critérios de exclusão.....	17
3.7. Plano operacional da pesquisa .....	18
3.8. Aplicação do laser em baixa intensidade .....	20
3.9. Análise estatística .....	24
4. RESULTADOS .....	25
4.1. ARTIGO .....	25
4.2. Resultados referentes ao artigo .....	25
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÃO .....	36
7. REFERÊNCIAS .....	37
8. ANEXO 1 - Artigo.....	41

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Fluxograma do Estudo.	19
FIGURA 2: Laser Ga-Al-As, Therapy XT, DMC Equipamentos, São Carlos, Basil.	22
FIGURA 3: Aplicação com o laser infravermelho	23
Figura 4: Escala Visual Analógica Numérica.	23
FIGURA 5: Boxplot da EVA de dor dos pacientes dos grupos estudados.	27

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Parâmetros Dosimétricos.	21
TABELA 2: Dados demográficos dos sujeitos do experimento.	25
TABELA 3: Variáveis dor e grupo.	26
TABELA 4: Localização dos dentes tratados.	29
TABELA 5: Gênero dos pacientes.	31
TABELA 6: Escala Visual Numérica de Dor dos Pacientes.	32

## LISTA DE ABREVIATURAS

Nanômetro.....	nm
Micrômetro.....	µm
Joules.....	J
Laser em baixa intensidade .....	LBI
Fotobiomodulação .....	FBM
Termo de consentimento Livre e Esclarecido .....	TCLE
Termo de Assentimento.....	TA
Escala Visual Analógica Numérica.....	EVA
Interleucina um beta .....	IL-1 β
Interleucina seis.....	IL-6
Fator de necrose tumoral alfa .....	TNF-α

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

As principais queixas dos pacientes em tratamento ortodôntico são o tempo prolongado do tratamento e a dor, muitas vezes subestimada pelos ortodontistas, mas pode influenciar negativamente a cooperação do paciente e induzir a interrupções<sup>12, 5, 14</sup>.

Na área da ortodontia cerca de 90% dos pacientes ainda associam o tratamento com a dor, apesar dos recentes progressos, sendo esse o fator mais comum de desistências<sup>9, 10, 3</sup>. A dor é subjetiva, um fenômeno complexo com muitas variáveis e fatores diferentes, varia de indivíduo para indivíduo, podendo o mesmo apresentar diferentes níveis em diferentes tempos em sua vida, devido a fatores como história pessoal, histórico genético, sexo e idade e relacionados a fatores externos<sup>9</sup>.

A dor provocada pela instalação dos separadores elastoméricos, no início do tratamento, é muito comum e intensa nos dois primeiros dias<sup>7,8</sup>. A aplicação de forças cria zonas de compressão e tensão no ligamento periodontal seguida por reações inflamatórias, induzindo a uma reação em cascata tais como: mudança no fluxo sanguíneo, liberação de mediadores químicos como histamina, serotonina, dopamina, glicina, prostaglandinas, substância P e citocinas, resultando a hiperalgesia<sup>7,6,2</sup>. As prostaglandinas, substância P, encefalina, leucotrienos, bradicininas, histaminas são as maiores responsáveis nesse processo, pois sensibilizam as terminações nervosas, agravando a inflamação e aumentando a dor<sup>6, 11, 12</sup>.

As citocinas são proteínas secretadas pelas células, por linfócitos, monócitos, leucócitos e quimiocinas – citocinas quimiotáticas. Existem evidências que atuam não apenas na iniciação da inflamação, mas também na persistência da dor patológica, a exemplo as citocinas pro - inflamatórias IL-1  $\beta$  (interleucina um beta), IL-6 (interleucina seis), TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral alfa), ativando diretamente neurônios sensoriais nociceptivos<sup>21,30</sup>.

Os macrófagos adotam um perfil pro inflamatório e desempenham um papel crucial no início da inflamação produzindo essas citocinas e fatores inflamatórios como também cicloxigenase 2 (COX-2) e óxido nítrico sintase (iNOS). Após 4

dias da lesão, produzem enzimas e fatores de crescimento para reconstruir o tecido danificado. Os diferentes fenótipos dessas células sugerem que possam ser alvo de diversas intervenções terapêuticas<sup>20, 16, 1</sup>.

Pacientes que apresentam alto índice de dor podem utilizar agentes farmacológicos e métodos não farmacológicos. Diferentes métodos são propostos para reduzir a dor, medicamentos como analgésicos e anti-inflamatórios, a exemplo o Ibuprofeno são comumente utilizados. Contudo possuem seus efeitos colaterais sistêmicos como alergia, úlcera péptica, problemas congestivos de coração e ainda interferem na movimentação ortodôntica por afetarem o mecanismo de ação dos osteoclastos, estendendo mais os tratamentos <sup>3, 4, 7, 6, 9, 29</sup>.

Outras terapias para alívio da sensibilidade dolorosa, como o uso de pastilhas plásticas, gomas de mascar, bytes wafer, géis anestésicos, estimulação elétrica nervosa e estimulação vibratória, demonstraram efeito analgésico durante a mastigação, mas os resultados não foram significativos entre eles<sup>11, 13, 15</sup>. Farzanegan *et al.* observou em seu estudo que entre essas terapias a goma de mascar pode ser recomendada como alternativa<sup>3, 11, 15</sup>.

Novas teorias estão sendo estudadas e os lasers em baixa intensidade (LBI) têm se mostrado eficazes devido aos seus efeitos terapêuticos, de fotobiomodulação (FBM) e por não apresentarem efeitos colaterais. A FBM se refere à aplicação de fótons de energia no tecido injuriado para se alcançar uma estimulação e efeito regenerativo a nível molecular <sup>22, 1</sup>. A terapia com o LBI tem sido muito pesquisada com as aplicações de Led (Diodo emissor de luz), lasers vermelho e infravermelho tanto em animais como em humanos<sup>4, 28</sup>.

As propriedades analgésicas e anti-inflamatórias do LBI estão relacionadas à reativação de enzimas direcionadas a fatores indutores de dor inibindo a despolarização nervosa (Fibra C), a ciclooxigenase 2 (COX-2), a produção de ATP, a degradação de bradicinina, a redução das citocinas inflamatórias e prostaglandinas. Além de promover um aumento da atividade de receptores celulares responsáveis pela indução da produção de endorfinas e do potencial de ação dos neurônios <sup>3, 4</sup>.

A FBI tem demonstrado eficácia de acordo com as pesquisas por ser um método de aplicação simples, indolor, sem efeitos colaterais e poucas contraindicações<sup>14, 8</sup>. As respostas biológicas da FBI incluem além da redução da dor e da inflamação, a indução da proliferação celular, a aceleração do processo de cicatrização, auxilia na regeneração neurológica, promove microcirculação vascular e linfática e modula o sistema imunológico<sup>1,18,28</sup>.

De acordo com a literatura, tanto LBI vermelho como LBI infravermelho tem ação analgésica, porém ainda não há parâmetros claros. Foram alcançados resultados positivos para redução da dor usando comprimentos de onda entre 632,8 nm e 980 nm, com potências entre 5 e 100mW e tempo de exposição de 20 segundos a 3 minutos com padrões diferentes<sup>19</sup>.

### **1.1. Justificativa**

A dor é um problema na clínica diária e motivo da desistência dos pacientes ao tratamento ortodôntico, pois é um processo que apresenta tanto respostas fisiológicas como psicológicas. A obtenção de um método eficaz para analgesia é interesse tanto dos pacientes como dos dentistas<sup>1</sup>.

A alta heterogenicidade dos estudos, com diferentes lasers, parâmetros, métodos e posições de teste (mandíbula – maxila) demonstra a necessidade em se estabelecer um protocolo clínico ideal que apoie os efeitos analgésicos do LBI<sup>6</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Principal**

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos analgésicos da FBM com uma única sessão de LBI nos indivíduos em um ensaio clínico controlado randomizado.

### **2.2. Hipótese**

Trabalhamos com a proposta que o efeito analgésico da fotobiomodulação com aplicação do laser infravermelho diminui a sensibilidade dolorosa após a instalação de separadores elastoméricos.

H0: A aplicação do laser infravermelho sobre a mucosa dentária possui poder fotobiomodulador analgésico preventivo contra a dor.

H1: A aplicação do laser infravermelho sobre a mucosa dentária não possui poder fotobiomodulador analgésico preventivo contra a dor.



### 3. MATERIAIS E MÉTODOS.

#### 3.1. Tipo do estudo

O estudo controlado randomizado, caracterizado como longitudinal, elaborado seguindo as recomendações CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials), foi realizado com pacientes devidamente matriculados na clínica odontológica da Universidade Nove de Julho – São Paulo. O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Nove de Julho conforme resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/2012.

#### 3.2. Registro do estudo

O projeto para o estudo proposto recebeu aprovação do Comitê de ética em Pesquisa em Humanos da Universidade Nove de Julho (número do certificado: 13694419.1.0000.5511). Esse protocolo foi registrado no ClinicalTrial.gov, em <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03939988>. Foi publicado pela primeira vez e atualizado pela última vez em 6 de maio de 2019.

#### 3.3. Cálculo amostral

O dimensionamento da amostra para avaliação do efeito analgésico da FBM foi determinado baseando-se no resultado dos estudos prévios de Qamruddin *et al.* utilizando o programa Gpower\* Software Version 3.1.9.2. O tamanho de 36 indivíduos por grupo, totalizando 72, foi estimado para fornecer poder do teste acima de 80%, para um nível de significância de 5%, um tamanho de efeito acima de 0,60, a fim de detectarmos diferença entre eles.

$$d = \frac{\text{maior} - \text{menor}}{\left(\frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right)} = \frac{5.04 - 1.86}{\left(\frac{3.24}{\sqrt{2}}\right)} = 0.60$$

Entretanto, nesse estudo contamos com 42 indivíduos de ambos os sexos, com idade a partir de 11 anos, em início de tratamento ortodôntico na clínica da Universidade Nove de Julho – São Paulo. Os participantes foram divididos aleatoriamente entre grupo experimento, contendo 20, e grupo placebo com 22 amostras.

#### **3.4. Randomização dos pacientes**

Os participantes foram distribuídos de maneira aleatória entre dois grupos, designados como um grupo experimento , grupo laser – laser irradiado e o outro grupo placebo – laser simulado. Para comparação entre os grupos os voluntários receberam dois envelopes, um envelope com a letra A para grupo laser, irradiado, e outro envelope com a letra B para não irradiado, não tendo conhecimento de qual seria o grupo experimental – laser- ou placebo. Os participantes com o envelope A, grupo laser, imediatamente após a instalação dos separadores elastoméricos, foram irradiados com o laser em baixa intensidade infravermelho. Utilizamos a mesma metodologia para os que optaram pelo envelope B porém com laser simulado<sup>2</sup>.

#### **3.5. Critérios de inclusão**

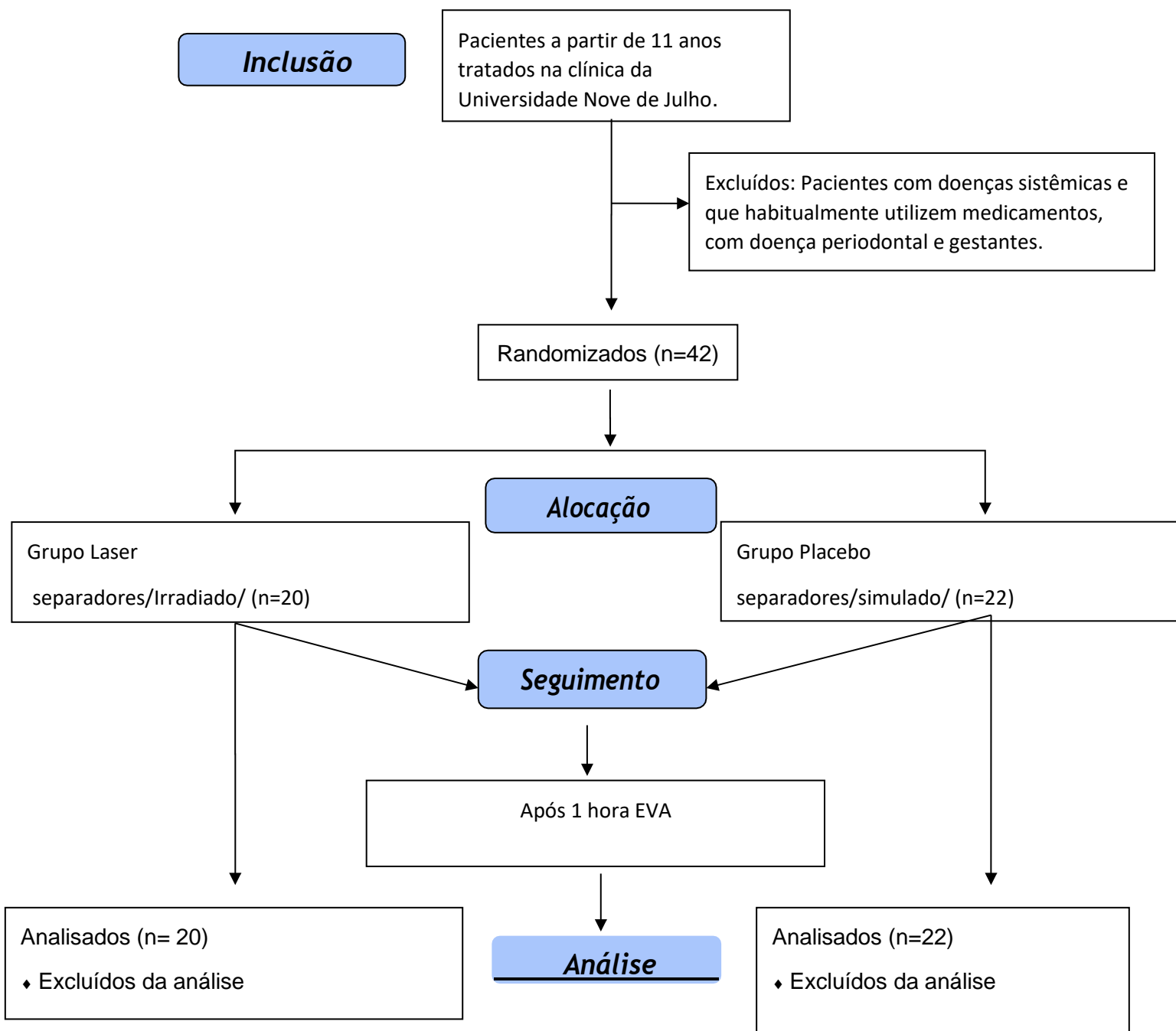
Foram incluídos os participantes de ambos os sexos com idade a partir de 11 anos, em tratamento ortodôntico e que não o tenham feito anteriormente. Avaliamos as condições clínicas de normalidade do periodonto através de exame clínico prévio e com sondagem do sulco gengival. Os pacientes apresentavam os molares saudáveis, com contatos interproximais entre o segundo molar e o segundo pré-molar, na fase da dentição permanente, e pacientes que não faziam uso de medicamentos antiinflamatórios ou analgésicos há 4 dias<sup>2</sup>.

#### **3.6. Critérios de exclusão**

Excluímos os indivíduos que possuíam doenças sistêmicas e que habitualmente utilizem medicamentos, com doença periodontal ou gengival e as gestantes<sup>2</sup>.

### **3.7. Plano operacional da pesquisa**

Objetivando a qualidade desse estudo clínico controlado randomizado seguiremos as recomendações CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials). Figura 1.



**Figura 1.** Fluxograma do estudo.

Os participantes foram divididos aleatoriamente entre dois grupos: grupo laser, irradiado, e grupo placebo, não irradiado, através da escolha entre dois envelopes, um com a letra A e outro com a letra B, sendo A o grupo laser e B o grupo placebo, sem terem conhecimento de quais eram os grupos. O grupo laser foi irradiado com LBI infravermelho e o grupo placebo recebeu a aplicação simulada com o aparelho de laser desligado, apenas usando o sinal sonoro para reproduzir a aplicação. O pesquisador inseriu os separadores elastoméricos (4,0 mm de diâmetro, Referência 60.04.200, marca Morelli Ortodontia), com o auxílio de fio dental, entre os contatos interproximais mesial e distal dos primeiros molares permanentes. Os separadores foram instalados nos pontos de contato entre o segundo pré-molar e o primeiro molar e entre o primeiro molar e o segundo molar e imediatamente receberam uma única sessão de irradiação de LBI infravermelho. A instalação dos separadores e as aplicações de LBI foram feitas pelo mesmo pesquisador em uma sala isolada e durante a irradiação o pesquisador e o paciente utilizaram óculos de proteção<sup>2</sup>.

A irradiação nessa única sessão foi aplicada em três pontos nas faces vestibular e três pontos na face lingual dos primeiros molares: nas papilas interproximais do terço cervical, mesial e distal, e no terço apical das raízes. Os participantes foram esclarecidos pelo pesquisador sobre os objetivos do estudo e orientados a assinarem o TCLE e o TA<sup>2</sup>.

### **3.8. Aplicação do laser em baixa intensidade**

O aparelho utilizado foi o Laser Ga-Al-As (Therapy XT, DMC Equipamentos, São Carlos, Brasil - Figura 2), 100 mW de potência, laser em baixa intensidade, cuja ponteira, com diâmetro de 600 µm, possui duas fibras ópticas, cada fibra com os comprimentos de onda contínua de 808nm, infravermelho e de 660nm, vermelho. Neste estudo, submetemos os indivíduos do grupo experimental a aplicação de LBI, infravermelho, modo contínuo com comprimento de onda de 808 nm. (tabela 1)

Tabela 1. Parametros

Comprimento de onda	808 nm
Largura espectral (FWHM)	2 nm
Modo de funcionamento	Contínuo
Polarização	Aleatória
Perfil do feixe	Multimodo
Área no alvo	0,002826 cm <sup>2</sup>
Irradiância no alvo	35385 mW/cm <sup>2</sup>
Exposição radiante	707,4 J/cm <sup>2</sup>
Área irradiada	0,01695 cm <sup>2</sup>
Potência radiante	100 mW
Tempo de exposição	20 s por ponto
Diâmetro de abertura	600 µm
Irradiância na abertura	35385 mW/cm <sup>2</sup>
Energia radiante	2 J por ponto
Número de pontos irradiados	6, 3 pontos na face vestibular e 3 pontos na face lingual.
Técnica de aplicação	Contato
Número de sessões	Sessão única
Energia total irradiada	12 J por dente

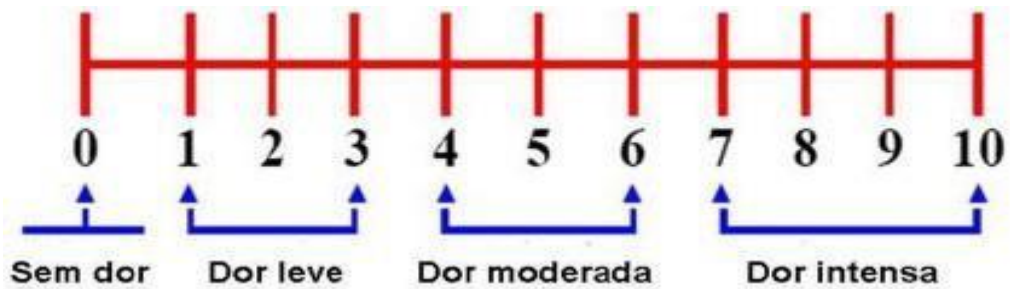


Figura 2: Laser Ga-Al-As, Therapy XT, DMC Equipamentos, São Carlos, Brasil

Posicionamos a ponteira do aparelho perpendicularmente na mucosa, sem exercer pressão, para a aplicação com o laser infravermelho no grupo laser e simulada para o grupo placebo ( Figura 3). Por ponto irradiamos 2J de energia por 20 segundos, totalizando 12J por dente, 6J do lado vestibular e 6J do lado lingual .Os parâmetros dosimétricos observados na tabela 1 foram selecionados de acordo com estudos prévios na literatura. Após uma hora da instalação dos separadores, os pacientes responderam a percepção da dor, sendo instruídos a quantificar seu nível de desconforto mensurando em uma Escala Visual Analógica Numérica (Figura 4) em intervalos predeterminados. A escala foi convertida em 11 pontos, 0 a 10, onde 0 refere a ausência de dor e 10 nível de dor intolerável. Os pacientes foram orientados a não fazerem uso de medicamentos durante a pesquisa.



Figura 3. Aplicação com o laser infravermelho. [Qamruddin I](#), [Alam MK](#), [Fida M](#), [Khan AG](#). Effect of a single dose of low-level laser therapy on spontaneous and chewing pain caused by elastomeric separators [Am J Orthod Dentofacial Orthop](#).2016 Jan;149(1):62-6.



**Figura 4.** Escala Visual Analógica Numérica

**Fonte:** Fortunato JGS, Fuertado MS, Hirabae LFA, Oliveira JA. Escalas de dor no paciente crítico: uma revisão integrativa. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto*. 2013; 12, 110-117. *BJHBS, Brazilian Journal of Health and Biomedical Sciences*.



### **3.9. Análise estatística**

Os dados foram tabulados e tratados no programa Microsoft Excel. Dados qualitativos foram reportados em termos de suas frequências e porcentagens. Dados quantitativos que apresentaram distribuição não paramétrica foram por suas medianas, quartis, máximos e mínimos. Para avaliação de normalidade dos dados utilizamos o teste Shapiro – Wilk. A análise inferencial foi feita utilizando o teste de Mann-Whitney, teste exato de Fisher e o teste qui-quadrado. Foi adotado o nível de significância de  $\alpha = 0.05$  ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

4.1. **ARTIGO:** ". AVALIAÇÃO DO USO DA FOTOBIMODULAÇÃO APÓS A INSTALAÇÃO DE SEPARADORES ELASTOMÉRICOS. ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO, RANDOMIZADO.

4.2. **Resultados referentes ao artigo.**

A Tabela 2 representa os dados dos 42 sujeitos do experimento. O grupo laser contou com 20 amostras e o grupo placebo com 22 com idade a partir dos 11 anos. Podemos observar quanto a localização do dente tratado S- superiores, maxila, e I- mandíbula que as amostras estão equilibradas, já com relação ao gênero ambos os grupos apresentam uma maior porcentagem de indivíduos do sexo feminino.

Tabela 2: Dados das amostras do experimento.

			Sem dor	Dor leve	Dor moderada	Dor severa	Total	Valor p
<b>Grupo Laser</b>	n		12	2	6	0	20	
	% em Grupo		60,0%	10,0%	30,0%	0,0%	100,0%	
	% na escala		48,0%	40,0%	85,7%	0,0%	47,6%	
	% do Total		28,6%	4,8%	14,3%	0,0%	47,6%	p=0,033*
<b>Grupo Placebo</b>	Contagem		13	3	1	5	22	
	% em Grupo		59,1%	13,6%	4,5%	22,7%	100,0%	
	% na escala		52,0%	60,0%	14,3%	100,0%	52,4%	
	% do Total		31,0%	7,1%	2,4%	11,9%	52,4%	

	Idade			Gênero		Dente tratado	
	Mediana	Mínimo	Máximo	F	M	S	I
				N / %	N / %	N / %	N / %
<b>Grupo Laser</b>	16	11	20	12 / 60	8 / 40	10 / 50	10 / 50
<b>Grupo Placebo</b>	15	11	33	18 / 90	2 / 10	12 / 55	10 / 45

Tabela 3. Análise da associação entre as variáveis dor e grupo.

\*p < 0,05 = diferença estatisticamente significativa, teste qui-quadrado.

Na análise da associação entre as variáveis dor e grupo, representada na Tabela 3, foi classificado o nível de dor, conforme a EVA (Figura 4) e observamos que houve associação estatisticamente significativa entre dor e grupo. Os participantes que relataram dor severa pertenciam ao grupo placebo, sendo que nenhum dos participantes do grupo laser relatou esse grau de dor. Por outro lado, uma maior porcentagem de participantes do grupo laser relatou sentir dor moderada, quando comparada a mesma intensidade de dor ao grupo placebo. Não houve diferença entre os grupos nos níveis de dor leve e sem dor. Conforme demonstrado na Figura 5.

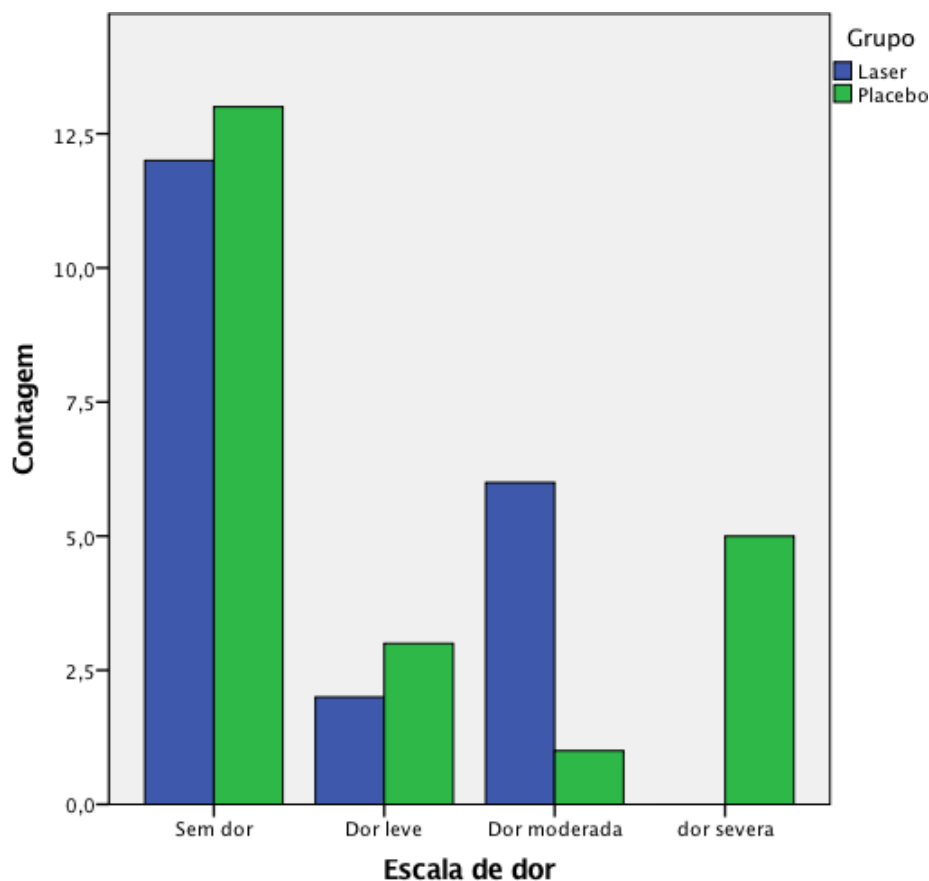


Figura 5. Escala de dor

Ao analisar a associação entre a dor e a localização do elemento dental, maxila – Superior e mandíbula – Inferior, como mostra a Tabela 4, não foi observada diferença estatisticamente significativa.

Tabela 4. Análise da associação do nível de dor e a localização do elemento dental, segundo os grupos do estudo.

Grupo	Região	Superior	Inferior	Valor p			
Laser	Escala de dor	Sem dor	n	6	6	12	p=0,264
			% em escala	50,0%	50,0%	100,0%	
			% em Região	60,0%	60,0%	60,0%	
			% do Total	30,0%	30,0%	60,0%	
		Dor leve	n	2	0	2	
			% em escala	100,0%	0,0%	100,0%	
			% em Região	20,0%	0,0%	10,0%	
			% do Total	10,0%	0,0%	10,0%	
		Dor moderada	n	2	4	6	
			% em escala	33,3%	66,7%	100,0%	
			% em Região	20,0%	40,0%	30,0%	
			% do Total	10,0%	20,0%	30,0%	
Placebo	Escala de dor	Sem dor	n	7	6	13	p=0,264
			% em escala	53,8%	46,2%	100,0%	
			% em Região	58,3%	60,0%	59,1%	
			% do Total	31,8%	27,3%	59,1%	
		Dor leve	n	2	1	3	
			% em escala	66,7%	33,3%	100,0%	
			% em Região	16,7%	10,0%	13,6%	
			% do Total	9,1%	4,5%	13,6%	
		Dor moderada	n	0	1	1	
			% em escala	0,0%	100,0%	100,0%	
			% em Região	0,0%	10,0%	4,5%	
			% do Total	0,0%	4,5%	4,5%	
		Dor severa	n	3	2	5	
			% em escala	60,0%	40,0%	100,0%	
			% em Região	25,0%	20,0%	22,7%	
			% do Total	13,6%	9,1%	22,7%	

\*p < 0,05 = diferença estatisticamente significante, teste qui-quadrado.

O nível de dor em ambos os grupos analisados, de acordo com o gênero das amostras, demonstrou haver maior associação entre o gênero feminino e nível de dor representados na Tabela 5.

Tabela 5. Análise da associação do nível de dor e gênero, segundo os grupos do estudo.

Grupo	Gêneros		Feminino	Masculino	Total	Valor p	
Laser	Escala de dor	Sem dor	n	4	8	12	
			% em escala	33,3%	66,7%	100,0%	
			% em Sexo	33,3%	100,0%	60,0%	
			% do Total	20,0%	40,0%	60,0%	p= 0,012*
		Dor leve	n	2	0	2	
			% em escala	100,0%	0,0%	100,0%	
			% em Sexo	16,7%	0,0%	10,0%	
			% do Total	10,0%	0,0%	10,0%	
		Dor moderada	n	6	0	6	
			% em escala	100,0%	0,0%	100,0%	
			% em Sexo	50,0%	0,0%	30,0%	
			% do Total	30,0%	0,0%	30,0%	
Placebo	Escala de dor	Sem dor	n	13	0	13	
			% em escala	100,0%	0,0%	100,0%	
			% em Sexo	65,0%	0,0%	59,1%	
			% do Total	59,1%	0,0%	59,1%	
		Dor leve	n	3	0	3	
			% em escala	100,0%	0,0%	100,0%	
			% em Sexo	15,0%	0,0%	13,6%	
			% do Total	13,6%	0,0%	13,6%	p= 0,006*
		Dor moderada	n	0	1	1	
			% em escala	0,0%	100,0%	100,0%	
			% em Sexo	0,0%	50,0%	4,5%	
			% do Total	0,0%	4,5%	4,5%	
Dor severa	n	4	1	5			
	% em escala	80,0%	20,0%	100,0%			
	% em Sexo	20,0%	50,0%	22,7%			
	% do Total	18,2%	4,5%	22,7%			

\*p < 0,05 = diferença estatisticamente significante, teste qui-quadrado.



A Tabela 6 apresenta os valores da percepção da dor por meio da EVA após 1 hora do tratamento nos grupos laser e placebo representados pela mediana e pelos intervalos inter-quartil.

**Tabela 6.** Escala Visual Numérica de Dor dos Pacientes

		Dor	
		Grupo Laser	Grupo Placebo
Mínimo	0	0	0
1º Quartil	1	0	0
Mediana	2	0	0
3º Quartil	3	4,25	2,25
Máximo	4	6	8

## 5. DISCUSSÃO

A instalação de separadores elastoméricos para gerar espaço entre os dentes e bandar os molares é parte da rotina do tratamento ortodôntico. Este processo causa deslocamento dos dentes adjacentes, devido a presença de contatos interproximais apertados e liberação de mediadores bioquímicos no sulco gengival. A espessura média da banda é de 0,16 mm o que requer uma separação de 0,25 mm e os métodos de separação devem ser fáceis de colocar, com pouco ou nenhum desconforto, contudo os elastômeros são mais eficazes diante de outros separadores, porém apresentam um nível maior de dor<sup>13,22</sup>.

A dor associada a instalação dos separadores interfere em funções como a mastigação e padrão alimentar, causando desconforto e necessidade de medicação<sup>12,5,14,22</sup>. Um estudo em ratos observou que o grupo irradiado, após fazer expansão palatina, continuou a ganhar peso mais facilmente que o grupo controle – não irradiado, isto se deve a um controle mais eficiente da dor com a irradiação do LBI<sup>4</sup>.

A dor é uma resposta subjetiva, com grandes variações pessoais, como idade, sexo, limiar de dor individual, magnitude de força aplicada, estado emocional e estresse presente, diferenças culturais e experiências anteriores de dor. A percepção da dor faz parte de uma reação inflamatória resultando na liberação de vários mediadores químicos, como as prostaglandinas, histamina, bradicininas, serotonina, substância P e citocinas como a interleucina um beta - IL-1  $\beta$ , deixando o ligamento periodontal sensível e provocando a resposta hiperalgésica<sup>25,7,6,2</sup>.

Dominguez *et al.* citam em sua pesquisa que resultados de estudos anteriores indicam que a maior intensidade de dor dentária é alcançada após o início do tratamento e está associada ao aumento do nível desses mediadores.

Medicamentos relatados como eficazes no controle da dor incluem o ibuprofeno, paracetamol, naproxeno sódico, aspirina, meloxicam, etoricoxibe, piroxicam e tenoxicam. Entretanto esses possuem efeitos colaterais e outros métodos fisioterápicos incluem goma de mascar, placa viscoelástica leve e pesada como terapias alternativas e sem efeitos colaterais<sup>11,15,26,28</sup>.

Farzanegan F *et al* e Bayani *et al* observaram em seu estudo que as gomas de mascar e as placas viscoelásticas podem substituir o ibuprofeno.

Recentes pesquisas com a laserterapia mostram se favoráveis na redução da sensibilidade dolorosa. A redução pela aplicação do LBI foi relatada em várias pesquisas por sua ação anti-inflamatória e fotobiomoduladora. A irradiação a laser oferece recursos vantajosos, como a hemostasia, ausência de contato mecânico, capacidade regenerativa e redução de células bacterianas no local da aplicação<sup>28</sup>.

Marini *et al*, kim *et al*, Farias *et al*, Nóbrega *et al* e Eslamian *et al* observaram em seu estudo que a aplicação do LBI após a inserção dos separadores foi eficaz no controle da dor nos primeiros 3 dias com acentuada variação entre os grupos tratamento e controle. Farias *et al*. e Eslamian *et al*. encontraram resultados positivos usando LBI infravermelho, quanto a redução da dor, o primeiro com dose única, 3 pontos por vestibular com 15 segundos cada, e o segundo com 10 doses, repetida após 24 horas, e ambos com mesmo comprimento de onda 810 nm. Almallah *et al* testaram o efeito do LBI infravermelho comparando um protocolo com uma única aplicação imediatamente à instalação dos separadores e outro com dupla aplicação, imediatamente após a inserção do separador e após 24 horas. Os autores observaram que o LBI foi eficaz na redução da dor sem diferenças significativas entre os protocolos de aplicação única e dupla.

Sobouti *et al* também relataram um efeito positivo na redução da dor utilizando o LBI vermelho durante a retração dos caninos na maxila. Contudo, Dalaie *et al*. e Cronshaw *et al*. não observaram diferenças significativas entre a movimentação ortodôntica e a dor com a aplicação de LBI infravermelho. Bayani *et al* compararam as radiações de LBI vermelho e infravermelho com placas de mordida e o ibuprofeno e concluíram em seu estudo que o LBI infravermelho era mais eficaz no controle da dor.

Souza *et al*. baseado nas informações dos artigos de seu estudo concluiu haver inibição da dor, utilizando tanto os comprimentos de onda vermelho e infravermelho, aplicando energias entre 1J a 2J e alternando as potências, os pontos e a quantidade de energia.

Lee *et al.* relata em seu estudo o uso LBI vermelho para regulação das citocinas pró – inflamatórias que pode ser de grande valia para terapia periodontal.

A terapia de fotobiomodulação (FBI), também conhecida como terapia a laser em baixo nível (LBI), é uma abordagem de rápido crescimento para estimular a cicatrização, aumentar a regeneração dos tecidos e reduzir a dor e a inflamação. A FBI não apresenta efeitos colaterais conhecidos e, até o momento, não mostrou adaptação a longo prazo ao tratamento. A aplicação do laser infravermelho na dor apresenta vantagens clínicas como a penetração mais profunda <sup>29, 23,31</sup>.

Ren *et al.* afirmaram que os resultados de estudos que investigam a redução da dor ortodôntica com LBI dependem de três fatores principais: variações individuais, metodologia de estudo e parâmetros do feixe de laser.

Comparando os resultados de estudos que utilizaram protocolos similares de LBI definimos os parâmetros dosimétricos citados na Tabela 1 para aplicação em 6 pontos dos primeiros molares, três pontos por vestibular e três por lingual, e de acordo com os achados neste estudo encontramos efeito da FBM na redução da dor.

## **6. CONCLUSÃO**

O presente estudo apresentou diferença significativa na sensibilidade dolorosa quando aplicado o laser em baixa intensidade após a instalação dos separadores elastoméricos. Durante o experimento somente o grupo placebo relatou sentir dor severa e nenhum participante do grupo laser relatou esse nível de dor. A relevância clínica desses resultados nos leva a concluir que a aplicação do laser infravermelho sobre a mucosa dentária possui poder fotobiomodulador analgésico preventivo contra a dor.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Huang TH, Liu SL, Chen CL, Shie MY, Kao CT. Low-Level Laser Effects on Simulated Orthodontic Tension Side Periodontal Ligament Cells. Photomed Laser Surg.2013 Feb;31(2):72-7. doi: 10.1089/pho.2012.3359. Epub 2013 Jan 17.
2. Farias RD, Closs LQ, Miguens SA Jr. Evaluation of the use of low-level laser therapy in pain control in orthodontic patients: A randomized split-mouth clinical Trial. Angle Orthod.2016 Mar;86(2):193-8. doi: 10.2319/122214-933.1. Epub 2015 Jul 1.
3. Sobouti F,Khatami M,Chiniforush N,Rakhshan V,Shariati M.Effect of single-dose low-level helium-neon laser irradiation on orthodontic pain: a split-mouth single-blind placebo-controlled randomized clinical trial. Prog Orthod.2015;16:32. doi: 10.1186/s40510-015-0102-0. Epub 2015 Sep 29.
4. Mohammad-Hoseyni A,Pirmoradian-Najafabadi M,Ashnagar S,Nokhbatolfoghahaei H,Fekrazad R. Effect of Low Level Laser Therapy on Pain Reduction After Midpalatal Expansion in Rats. J Dent (Tehran).2015 Sep;12(9):655-61.
5. Dalaie K, Hamed R, Kharazifard MJ, Mahdian M, Bayat M. Effect of Low-Level Laser Therapy on Orthodontic Tooth Movement: A Clinical Investigation. J Dent (Tehran).2015 Apr;12(4):249-56.
6. Ren C, McGrath C, Yang Y. The effectiveness of low-level diode laser therapy on orthodontic pain management: a systematic review and meta-analysis Lasers Med Sci.2015 Sep;30(7):1881-93. doi: 10.1007/s10103-015-1743-4. Epub 2015 Mar 24.
7. Almallah MM, Almahdi WH, Hajeer MY. Evaluation of Low Level Laser Therapy on Pain Perception Following Orthodontic Elastomeric Separation: A Randomized Controlled Trial. J Clin Diagn Res.2016 Nov;10(11):ZC23-ZC28. doi: 10.7860/JCDR/2016/22813.8804. Epub 2016 Nov 1.

8. Kim WT, Bayome M, Park JB, Park JH, Baek SH, Kook YA. Effect of frequent laser irradiation on orthodontic pain. A single-blind randomized clinical Trial. Angle Orthod.2013 Jul;83(4):611-6. doi: 10.2319/082012-665.1. Epub 2012 Dec 14.
9. Artés-Ribas M, Arnabat-Dominguez J, Puigdollers A. Analgesic effect of a low-level laser therapy (830 nm) in early orthodontic treatment. Lasers Med Sci.2013 Jan;28(1):335-41. doi: 10.1007/s10103-012-1135-y. Epub 2012 Jul 21.
10. Eslamian L, Borzabadi-Farahani A, Hassanzadeh-Azhiri A, Badiee MR, Fekrazad R. The effect of 810-nm low-level laser therapy on pain caused by orthodontic elastomeric separators. Lasers Med Sci.2014 Mar;29(2):559-64. doi: 10.1007/s10103-012-1258-1. Epub 2013 Jan 20.
11. Bayani S, Rostami S, Ahrari F, Saeedipouya I. A randomized clinical trial comparing the efficacy of bite wafer and low level laser therapy in reducing pain following initial arch wire placement.Laser Ther.2016 Jun 29;25(2):121-129.
12. Marini I, Bartolucci ML,Bortolotti F, Innocenti G, Gatto MR, Alessandri Bonetti G. The effect of diode superpulsed lowlevel laser therapy on experimental orthodontic pain caused by elastomeric separators:a randomized controlled clinical trial.Lasers Med Sci.2015 Jan;30(1):35-41. doi: 10.1007/s10103-013-1345-y. Epub 2013 May 11.
13. Qamruddin I, Alam MK, Fida M, Khan AG. Effect of a single dose of low-level laser therapy on spontaneous and chewing pain caused by elastomeric separators Am J Orthod Dentofacial Orthop.2016 Jan;149(1):62-6. doi: 10.1016/j.ajodo.2015.06.024.
14. Sousa MV, Pinzan A, Consolaro A, Henriques JF, de Freitas MR. Systematic Literature Review: Influence of Low-Level Laser on Orthodontic Movement and Pain Control in Humans Photomed Laser Surg.2014 Nov;32(11):592-9. doi: 10.1089/pho.2014.3789. Epub 2014 Oct 21.
15. Farzanegan F, Zebarjad SM, Alizadeh S, Ahrari F. Pain reduction after initial archwire placement in orthodontic patients: A randomized clinical Trial. Am J Orthod Dentofacial Orthop.2012 Feb;141(2):169-73. doi: 10.1016/j.ajodo.2011.06.042.

16. Paknejad M, Sattari M, Roozbahani M, Ershadi M, Mehrfard A, Relationships between High-mobility Group Protein B1 and Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells Concentrations in Gingival Crevicular Fluid and Chronic Periodontitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. October 2016; 15 (5):381-385.
17. Lee J. et al. Anti-inflammatory effects of low level laser therapy on human periodontal ligament cells: in vitro study. *Lasers Med Sci* (2018) 33: 469-477.
18. Basso F. et al. Low- level laser therapy in 3Dcell culture model using gingival fibroblasts. *Lasers Med Sci*. DOI:10.1007/s10103-016-1945-4.
19. Dominguez A, Gómez C, Palma J. Effects of low-level laser therapy on orthodontics: rate of tooth movement, pain, and release of RANKL and OPG in GCF. *Lasers Med Sci* DOI 10.1007/s10103-013-1508-x.
20. Fernandes K et al. Photobiomodulation with 660-nm and 780-nm laser on activated J774 macrophage-like cells: Effect on M1 inflammatory markers. *J Photobiol B*. 2015 December; 153: 344-351. DOI:10.1016/j.jphotobiol.2015.10.015.
21. Zhang J, MSc, MD<sup>1</sup> and An J, MSc, MD<sup>2</sup>. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007; 45(@): 27-37. DOI: 10.1097/AIA. 0b013e318034194e.
22. Tripathi T, Singh N, Rai P, Khanna N. Separation and pain perception of Elastomeric, Kesling and Kansal separators. *Dental Press J Orthod* 2019, Mar-PR, 24: 42-8.
23. Shi Q, Yang S, Jia F and Xu J. Does low level laser therapy relieve the pain caused by the placement of the orthodontic separators? – A meta – analysis. *Head & Face Medicine* 2015; 11:28.
24. Wu S *et al*. Effect of low-level laser therapy on tooth- related pain and somatosensory function evoked by orthodontic treatment. *International Journal of Oral Science* 2018; 10:22.
25. Abtahi S, Mousavi S, Shafae H, Tanbakuchi B. Effect of low-level laser therapy on dental pain induced by separator force in orthodontic treatment. *Dent Res J (Isfahan)*. 10: 647-651.



26. Topolski F, Moro A, Correr G M, Schimim S C. Optimal management of orthodontic pain. *Journal of Pain Research* 2018; 589-598.
27. Makrygiannakis M A , Kaklamanos E G and Athanasiou A E. Medication and orthodontic tooth movement. *Journal of Orthodontics* 2019; 1-6.
28. Nadhreen A A, Alamoudi NM, Elkhodary HM. Low-level Laser Therapy in Dentistry: Extra-oral Applications. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 2019; Volume 22, Issue 10.
29. de Sousa et al. Pain management using photobiomodulation: mechanisms, location, and repeatability quantified by pain threshold and neural biomarkers in mice. *J Biophotonics* . 2018 July ; 11(7): e201700370. doi:10.1002/jbio.201700370.
30. Deana N F, Zaror C, Sandoval P and Alves N. Effectiveness of Low-Level Laser Therapy in Reducing Orthodontic Pain: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pain Research and Management* Volume 2017, Article ID 8560652, 18 pages <https://doi.org/10.1155/2017/8560652>.
31. Cronshaw M, Parker S, Anagnostaki E and Lynch E. Systematic Review of Orthodontic Treatment Management with Photobiomodulation Therapy. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery* Volume 37, Number 12, 2019; Mary Ann Liebert, Inc. Pp. 862–868 DOI: 10.1089/photob.2019.4702

## Evaluation of the use of photobiomodulation following the placement of elastomeric separators Protocol for a randomized controlled clinical trial

Silvana Machado Ortega, MS<sup>a</sup>, Marcela Leticia Leal Gonçalves, PhD<sup>a</sup>, Tamiris da Silva, MS<sup>b</sup>, Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana, PhD<sup>a</sup>, Lara Jansiski Motta, PhD<sup>a</sup>, Olga Maria Altavista, PhD<sup>a</sup>, Silvia Regina Olivani, PhD<sup>a</sup>, Ana Eliza Castanho Garrini dos Santos, MS<sup>a</sup>, Ana Luiza Cabrera Martimbianco, PhD<sup>c</sup>, Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, PhD<sup>a</sup>, Kristianne Porta Santos Fernandes, PhD<sup>a</sup>, Sandra Kalil Bussadori, PhD<sup>a,b,\*</sup>

### Abstract

**Background:** Pain stemming from the placement of elastomeric separators and the exchanging of wires and accessories is the greatest reason for abandoning orthodontic treatment. Indeed, discomfort related to treatment exerts a negative impact on quality of life due to the difficulty chewing and biting. This paper proposes a study to evaluate the analgesic effects of photobiomodulation (PBM) on individuals undergoing orthodontic treatment.

**Methods:** The sample will be composed of 72 individuals who receiving elastomeric separators on the mesial and distal faces of the maxillary first molars. The patients will be randomly allocated to 2 groups: an experimental group irradiated with low-level laser and a sham group submitted to simulated laser irradiation. Upon the placement of the separators, the experimental group will receive a single application of PBM on the mesial and distal cervical portion and apical third of the molars. Perceived pain will be analyzed after one hour using the visual analog scale in both groups. Samples will be taken of the gingival crevice with absorbent paper for 30 seconds for the analysis of cytokines using ELISA and the results of the 2 groups will be compared. The patients will sign a statement of informed consent. Statistical analysis will be performed with the Student's t test and analysis of variance (ANOVA).

**Discussion:** The expectation is that the patients in the irradiated group will have a lower perception of pain and lower quantity of cytokines compared to those in the sham group. The purpose of the study is to establish an effective method for PBM with the use of low-level infrared laser (Ga-Al-As with a wavelength of 808 nm and output power of 100 mW) for reductions in pain and inflammatory cytokines related to orthodontic treatment.

**Trial registration:** This protocol was registered in ClinicalTrials.gov, under number NCT03939988. It was first posted and last updated in May 6, 2019.

*The study will be conducted in accordance with the guidelines of good clinical practice and has been approved by the Research Ethics Committee of Universidade Nove de Julho under process number 13694419.1.0000.5511. It follows the 466/2012 resolution of the National Health Council. After clarification and authorization of participants (or their guardians, for those under age) they will sign a Free and Informed Consent Form. The identity of all individuals will be preserved in all stages of the research. Changes in the study will be reported to the committee and this will guarantee the confidentiality of each patient's data.*

*Data collection methods.*

*The authors were previously trained to collect data and perform the procedures. All authors are qualified in photobiomodulation therapy. All data will be entered electronically and will be accessible only to the authors of this study. They acknowledge Universidade Nove de Julho (UNINOVE) for the availability of laboratories and volunteers.*

*If during treatment, some participants choose to discontinue, these participants will be excluded from the study. We believe this possibility is unlikely because the procedure will only take one hour. No adverse effects are expected.*

*The authors have no funding and conflicts of interest to disclose.*

*All information collected from the participants will be transcribed into a database replacing the individuals' names with the registration number of the evaluation form. The datasets generated and analyzed during the present study are available from the corresponding author at reasonable request. After the analysis of the data, volunteers will be invited to a meeting and the results will be shared and they will become public.*

*<sup>a</sup> Postgraduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, <sup>b</sup> Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Universidade Nove de Julho, UNINOVE, <sup>c</sup> Postgraduate Program in Health and Environment, Universidade Metropolitana de Santos, UNIMES, Santos, SP, Brazil.*

*\*Correspondence: Sandra Kalil Bussadori, Postgraduate Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho/UNINOVE Vergueiro Street, 235/249, ZIP 01504-001- São Paulo, SP, Brazil (e-mail: sandra.sk@gmail.com).*

*Copyright © 2019 the Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc.*

*This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License 4.0 (CCBY), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.*

*How to cite this article: Ortega SM, Gonçalves MLL, da Silva T, Horliana ACRT, Motta LJ, Altavista OM, Olivani SR, Santos AECGd, Martimbianco ALC, Mesquita-Ferrari RA, Fernandes KPS, Bussadori SK. Evaluation of the use of photobiomodulation following the placement of elastomeric separators. *Medicine* 2019;98:43 (e17325).*

*Received: 30 August 2019 / Accepted: 3 September 2019*

*<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000017325>*

## 1. Introduction

Despite recent progress in the field, approximately 90% of orthodontic patients still associate treatment with pain, which is the most common reason for abandoning treatment.<sup>[1,2]</sup> Pain caused by the placement of elastomeric separators at the onset of treatment is very common and intense in the first two days.<sup>[3,4,5]</sup> Prostaglandins, substance P, enkephalin, leukotrienes, bradykinins and histamines are the main substances responsible for this process due to their role in sensitizing nerve endings, aggravating inflammation and increasing pain.<sup>[6,7,8]</sup> Cytokines are among the primary inflammatory mediators and constitute a group of low molecular weight proteins secreted by cells, such as the chemokine IL-8, which is responsible for leukocyte recruitment and is a potent chemoattractant for neutrophils, which explains its high concentration at tissue injury sites.<sup>[9,10-12]</sup>

New theories are being studied and photobiomodulation (PBM), especially low-level laser therapy (LLLT), has proven to be effective due to its therapeutic properties and lack of side effects. PBM is reported to achieve stimulation and a regenerative effect on the molecular level in injured tissue.<sup>[13-17]</sup>

This paper describes the protocol for a study with the purpose of evaluating PBM with a single session of infrared LLLT in individuals having received elastomeric separators at the onset of orthodontic treatment to determine its effects on reducing pain and the quantity of inflammatory cytokines.

## 2. Methods/design

### 2.1. Type of study

A randomized, controlled, clinical trial will be conducted following the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT statement). The study will involve patients recruited from the dentistry clinic of University Nove de Julho (São Paulo, Brazil).

### 2.2. Trial registration

The project for the proposed study received approval from the Human Research Ethics Committee of Universidade Nove de Julho (process number: 13694419.1.0000.5511). This protocol was registered in ClinicalTrial.gov, under number NCT03939988. It was first posted and last updated in May 6, 2019.

### 2.3. Calculation of sample size

The sample size for the evaluation of the analgesic effect of PBM was determined based on the results of previous studies by Qamruddin et al using the G\*Power software (version 3.1.9.2). Considering a 5% level of significance, 80% test power and effect size > .60 for the detection of differences between groups, a total of 36 individuals will be needed for each group.

$$d \approx \frac{\text{largest} - \text{smallest}}{n} \approx \frac{5.04 - 1.86}{36} \approx \frac{3.18}{36} \approx 0.088$$

### 2.4. Recruitment and Randomization of patients

The sample will consist of 72 male and female individuals 12 years of age or older at the onset of orthodontic treatment. They will be recruited by invitation at the dentistry clinic of University Nove de Julho. As they will already be in treatment, we expect adherence to the protocol will be satisfactory and the sample size will be achieved without much difficulty. The patients will be randomly divided into an experimental group and sham group – each with 36 patients. The patients will be randomly allocated to either an experimental group (active laser irradiation) or sham group (simulated laser irradiation). Randomization will be performed by asking the volunteers to choose between 2 envelopes. One envelope will contain a piece of paper with the letter A (corresponding to active laser) and the other will contain a piece of paper with the letter B (corresponding to sham laser). The volunteers will not be aware of which treatment they are receiving. The patients who received the envelope with the letter A will be submitted to the placement of elastomeric separators, followed by infrared LLLT and those who received the envelope with the letter B will be submitted to the placement of elastomeric separators, followed by simulated LLLT.<sup>[18]</sup>

### 2.5. Inclusion criteria

Individuals at the onset of orthodontic treatment and who have not previously undergone treatment will be included in the study. We will evaluate clinical conditions through a previous examination with probing of the gingival crevice for the inclusion of only patients with a healthy periodontium, sound maxillary molars with interproximal contacts between the second molar and premolar in the permanent dentition phase having not made use of anti-inflammatory drugs or analgesics in the previous 4 days.<sup>[18]</sup>

### 2.6. Exclusion criteria

Patients with systemic diseases who habitually take medications and those with periodontal disease will be excluded from the study.<sup>[18,19]</sup>

### 2.7. Operational plan

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.

After the researcher clarifies the objectives of the study, the participants will sign a statement of informed consent. The patients will be randomly divided into 2 groups using envelopes containing either the letter A (experimental group – active laser irradiation) or the letter B (sham group – simulated laser irradiation). The participants will have no knowledge

	Enrolment	Allocation			
TIMEPOINT	01 June 2019 – 30 Sept 2019	0	$t_1$ Baseline	$t_2$ After one hour	01 Nov 2019 – 15 Dec 2019
<b>ENROLMENT:</b>					
Eligibility screen	X				
Informed consent	X				
Allocation		X			
<b>INTERVENTIONS:</b>					
Installation of separators and photobiomodulation			X		
Installation of separators and placebo photobiomodulation			X		
<b>ASSESSMENTS:</b>					
Pain (VAS)			X	X	
IL-8 cytokine			X	X	
Statistical Analysis					X

Figure 1. SPIRIT figure as recommended by 2013 SPIRIT Statement.

infrared LLLT and the sham group will be submitted to the simulated procedure, during which the device will emit sound, but no radiant energy will be produced. Elastomeric separators will be placed with the assistance of dental floss between the mesial and distal interproximal contact of the permanent maxillary first molars, followed by immediate irradiation (active or sham). The procedure will be performed in an isolated room with both the researcher and patient wearing protective eyewear.<sup>[18]</sup>

Immediately after the placement of the separators, a single session of LLLT will be performed with 3 vestibular and 3 lingual applications to the maxillary first molars at three points of the interproximal papillae (cervical, mesial, and distal thirds) as well as the apical third of the roots.<sup>[20]</sup> Fluid will be collected from the gingival crevice in both groups during irradiation and 1 hour after irradiation for subsequent analysis.<sup>[18]</sup>

#### 1.1. Application of low-level laser

A Ga-Al-As laser (Therapy XT, DMC Equipamentos, São Carlos, Brazil) will be used with an output power of 100 mW. The tip of this device has a diameter of 600 mm and 2 optic fibers – one for delivering a wavelength of 808 nm (infrared) and another for delivering a wavelength of 660 nm (red). In the proposed study, the individuals in the experimental group will receive infrared laser in continuous mode at a wavelength of 808 nm.

The tip of the laser device will be positioned perpendicularly to the mucosa without exerting pressure. In the experimental group, each point will be irradiated with 2 J for 20 seconds, totaling 12J per tooth (6 J on the vestibular side and 6 J on the lingual side). Table 1 lists the dosimetric parameters, which were selected based on previous studies in the literature. One hour after the placement of the separators, the patients will report their perception of pain by marking their level of discomfort on the visual analog scale

**Table 1**

Dosimetric parameters.

Wavelength	808 nm
Spectral width (FWHM)	2 nm
Operating mode	Continuous
Polarization	Random
Beam profile	Multi-mode
Area at target	0.002826 cm <sup>2</sup>
Irradiance at target	35385 mW/cm <sup>2</sup>
Radiant exposure	707.4 J/cm <sup>2</sup>
Irradiated area	0.01695 cm <sup>2</sup>
Radiant power	100 mW
Exposure time	20 s
Diameter of aperture	600 mm
Irradiance at aperture	35385 mW/cm <sup>2</sup>
Radiant energy	2 J
Number of points irradiated	6
Application technique	Contact
Number of sessions	Single session
Total energy irradiated	12 J

(VAS) ranging from 0 (absence of pain) to 10 (intolerable pain). The patients will be instructed not to make use of medications during the study [21].

### 1.1. Collection of gingival crevicular fluid

Gingival crevicular fluid will be sampled in both groups for the evaluation of cytokines. Before and 1 hour after the placement of the separators, absorbent paper cones will be carefully inserted into the cervical middle third of the vestibular face of each tooth until encountering mild resistance and maintained in position for 30 seconds. Prior to the insertion of the paper cones, supra- gingival plaque will be delicately removed from the tooth surface. For such, the teeth will be isolated with cotton rolls and dried with compressed air. The volume of the gingival crevicular fluid will be calculated by the difference in weight of the paper cone before and after sampling at a proportion of 1 g/ml. The samples will be collected separately in sterile tubes containing 2 ml of phosphate buffer solution (pH 7.4) and stored at 70° C until the analysis of the cytokines-IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- $\alpha$ . [22] Cytokine levels will be determined by a single examiner using ELISA interleukin kits, strictly following the manufacturer's instructions. [22–25]

### 1.2. Analysis of results

The data will be tabulated and treated using the SPSS 22 program. Qualitative data will be expressed as frequency or percentage. Quantitative data will be expressed as mean and standard deviation values. The Shapiro-Wilks and Kruskal- Wallis tests will be used to determine the normality of the data. Associations between variables will be tested by comparing means of the VAS and ELISA results with the Student's *t* test and analysis of variance (ANOVA). The level of significance for all

tests will be set to 5% ( $P < .05$ ).

## 2. Discussion

The expected result will be the certification that infrared laser has an analgesic effect and reduces the quantity of inflammatory cytokines in the gingival crevicular fluid of patients at the onset of

orthodontic treatment. The expected benefits for the volunteers will be greater comfort, with a reduction in pain stemming from the placement of elastomeric separators.

### Author contributions

Conceptualization: Silvana Machado Ortega, Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Kristianne Porta Santos Fernandes, Sandra Kalil Bussadori.

Data curation: Ana Luiza Cabrera Martimbianco.

Formal analysis: Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana, Lara Jansiski Motta.

Investigation: Silvana Machado Ortega, Tamiris da Silva, Olga Maria Altavista, Silvia Regina Olivan, Ana Eliza Castanho Garrini dos Santos, Ana Luiza Cabrera Martimbianco.

Methodology: Silvana Machado Ortega, Tamiris da Silva, Olga Maria Altavista, Silvia Regina Olivan, Ana Eliza Castanho Garrini dos Santos, Ana Luiza Cabrera Martimbianco.

Software: Lara Jansiski Motta.

Supervision: Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana, Lara Jansiski Motta, Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Kristianne Porta Santos Fernandes, Sandra Kalil Bussadori.

Visualization: Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana.

Writing – original draft: Silvana Machado Ortega, Tamiris da Silva.

Writing – review & editing: Marcela Leticia Leal Gonçalves, Sandra Kalil Bussadori.

### References

- [1] Artés-Ribas M, Arnabat-Dominguez J, Puigdollers A. Analgesic effect of a low-level laser therapy (830 nm) in early orthodontic treatment. *Lasers Med Sci* 2013;28:335–41.
- [2] Eslamian L, Borzabadi-Farahani A, Hassanzadeh-Azhiri A, et al. The effect of 810-nm low-level laser therapy on pain caused by orthodontic elastomeric separators. *Lasers Med Sci* 2014;29:559–64.
- [3] Mohammad-Hoseyni A, Pirmoradian-Najafabadi M, Ashnagar S, et al. Effect of low level laser therapy on pain reduction after midpalatal expansion in rats. *J Dent (Tehran)* 2015;12:655–61.
- [4] Almallah MM, Almahti WH, Hajeer MY. Evaluation of low level laser therapy on pain perception following orthodontic elastomeric separation: a randomized controlled trial. *J Clin Diagn Res* 2016;10:ZC23–8.
- [5] Kim WT, Bayome M, Park JB, et al. Effect of frequent laser irradiation on orthodontic pain. A single-blind randomized clinical Trial. *Angle Orthod* 2013;83:611–6.
- [6] Ren C, McGrath C, Yang Y. The effectiveness of low-level diode laser therapy on orthodontic pain management: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 2015;30:1881–93.
- [7] Bayani S, Rostami S, Ahrari F, et al. A randomized clinical trial comparing the efficacy of bite wafer and low level laser therapy in reducing pain following initial arch wire placement. *Laser Ther* 2016;25:121–9.
- [8] Marini I, Bartolucci ML, Bortolotti F, et al. The effect of diode superpulsed lowlevel laser therapy on experimental orthodontic pain caused by elastomeric separators: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* 2015;30:35–41.
- [9] Sobouti F, Khatami M, Chiniforush N, et al. Effect of single-dose low-level helium-neon laser irradiation on orthodontic pain: a split-mouth single-blind placebo-controlled randomized clinical trial. *Prog Orthod* 2015;16:32.
- [10] Lee J, Chiang MH, Chen PH, et al. Anti-inflammatory effects of low level laser therapy on human periodontal ligament cells: in vitro study. *Lasers Med Sci* 2018;33:469–77.
- [11] Fernandes K, Souza NH, Ferraria RA, et al. Photobiomodulation with 660-nm and 780-nm laser on activated J774 macrophage-like cells: Effect on M1 inflammatory markers. *J Photobiol B* 2015;153: 344–51.

- [1] Dalaie K, Hamed R, Kharazifard MJ, et al. Effect of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement: a clinical investigation. *J Dent (Tehran)* 2015;12:249–56.
- [2] Huang TH, Liu SL, Chen CL, et al. Low-level laser effects on simulated orthodontic tension side periodontal ligament cells. *Photomed Laser Surg* 2013;31:72–7.
- [3] Ankri R, Lubart R, Taitelbaum H. Estimation of the optimal wavelengths for laser-induced wound healing. *Lasers Surg Med* 2010;42:760–4.
- [4] Basso F, Soares DG, Costa CA, et al. Low-level laser therapy in 3D cell culture model using gingival fibroblasts. *Lasers Med Sci. Lasers Med Sci* 2016;31:973–8.
- [5] Dominguez A, Gómez C, Palma J. Effects of low-level laser therapy on orthodontics: rate of tooth movement, pain, and release of RANKL and OPG in GCF. *Lasers Med Sci*. DOI: 10.1007/s10103-013-1508-x.
- [6] Farias RD, Closs LQ, Miguens SA Jr. Evaluation of the use of low-level laser therapy in pain control in orthodontic patients: a randomized split-mouth clinical trial. *Angle Orthod* 2016;86:193–8.
- [7] Farzanegan F, Zebarjad SM, Alizadeh S, et al. Pain reduction after initial archwire placement in orthodontic patients: a randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2012;141:169–73.
- [8] Qamruddin I, Alam MK, Fida M, et al. Effect of a single dose of low-level laser therapy on spontaneous and chewing pain caused by elastomeric separators. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2016;149:62–6.
- [9] Sousa MV, Pinzan A, Consolaro A, et al. Systematic literature review: influence of low-level laser on orthodontic movement and pain control in humans. *Photomed Laser Surg* 2014;32:592–9.
- [10] Wytrykowska A, Mackiewicz M, Nyka W. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in gingival fluid and serum of patients with ischemic stroke. *J Oral Sci* 2016;58:509–13.
- [11] Paknejad M, Sattari M, Roozbahani M, et al. Relationships between high-mobility group protein B1 and triggering receptor expressed on myeloid cells concentrations in gingival crevicular fluid and chronic periodontitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2016;15:381–5.
- [12] Hokari T, Morozumi T, Komatsu Y, et al. Effects of antimicrobial photodynamic clinical study. Therapy and local administration of monocyline on clinical, microbiological, and inflammatory makers of periodontal pockets: a pilot study. *Int J Dent* 2018; <https://doi.org/10.1155/2018/1748584>. Article ID 1748584, p. 9.
- [13] H Ahmad, Almeahdi, Alghamdi F. Biomarkers of Alveolar bone resorption in gingival crevicular fluid: A systematic review. *Arch Oral Biol*. 2018; 93:12–21. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.05.004>