



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

GABRIELA GAMA XAVIER AUGUSTO

**EFICÁCIA DE UM ANESTÉSICO TÓPICO APLICADO EM
MUCOSA PALATINA PRÉ-TRATADA COM MICROAGULHAS**

PIRACICABA

2019

GABRIELA GAMA XAVIER AUGUSTO

**EFICÁCIA DE UM ANESTÉSICO TÓPICO APLICADO EM
MUCOSA PALATINA PRÉ-TRATADA COM MICROAGULHAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Profa. Dra. Michelle Franz Montan Braga Leite

Coorientador: Dra. Stephany di Carla Santos

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELA ALUNA GABRIELA GAMA XAVIER AUGUSTO E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. MICHELLE FRANZ MONTAN BRAGA LEITE.

PIRACICABA

2019

Agência(s) de fomento e n°(s) de processo(s): Fapesp, 2017/19032-0

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

Au45e Augusto, Gabriela Gama Xavier, 1997-
Eficácia de um anestésico tópico aplicado em mucosa palatina pré-tratada com microagulhas / Gabriela Gama Xavier Augusto. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Michelle Franz Montan Braga Leite.
Coorientador: Stephany Di Carla Santos.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Microagulhas. 2. Mucosa bucal. 3. Odontologia. I. Franz-Montan, Michelle, 1982-. II. Di Carla, Stephany, 1992-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: Topical anesthetic efficacy on palatal mucosa pretreated with microneedles

Palavras-chave em inglês:

Microneedles
Mouth mucosa
Dentistry

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 01-10-2019

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha orientadora, que sempre teve muita paciência, sempre compreensiva e se esforçou ao máximo para transmitir seus conhecimentos. Aos meus pais e minha avó, grandes incentivadores e que sempre acreditaram na minha capacidade. Ao meu irmão, que nunca negou uma palavra de apoio.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), na pessoa do Magnífico Reitor Prof. Dr. Marcelo Knobel.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP), na pessoa de seu diretor Prof. Dr. Francisco Haiter Neto.

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP-UNICAMP, na pessoa de seu Chefe Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa na forma de bolsa de Iniciação Científica (processo nº-2017/19032-0) e auxílio à pesquisa nas modalidades Jovem Pesquisador (processo nº 2012/06974-4) e *São Paulo Researchers in International Collaboration* (SPRINT) (processo nº 2015/50004-5).

Ao professor colaborador Prof. Dr. Harvinder Singh Gill do Laboratório de Imuno-Engenharia e Micro-Nano Medicina, Departamento de Engenharia Química da Texas Tech University, Lubbock, TX, EUA, que cedeu as microagulhas e permitiu que o estudo fosse possível através da parceria pelo projeto SPRINT-FAPESP.

Agradeço aos voluntários pela participação, presença e compreensão do estudo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente agradeço pela confiança depositada na minha pessoa pela minha professora Michelle Franza Montan Braga Leite, orientadora do meu trabalho. Obrigada por sempre estar presente para indicar a direção correta a ser tomada, mesmo tendo que se afastar por ótimos motivos pessoais (maternidade). Além disso, acreditar no meu potencial e por me manter motivada durante toda a graduação.

À minha co-orientadora Stephany Di Carla Santos, por sempre estar presente e acessível para dúvidas, conselhos e realização dos experimentos.

Ao ex-aluno de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Fisiologia Oral, Henrique Abdalla, que realizou manualmente a dobra de todas as microagulhas utilizadas neste estudo.

À minha colega Nádia Cristina Favaro Moreira, pelos ensinamentos, auxílios e conversas.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP – UNICAMP), e seus professores que sempre proporcionaram ensinamentos de qualidade e de grande aprendizado para a vida.

Aos meus amigos que sempre proporcionaram momentos inesquecíveis e leves, mas também estavam presentes quando necessário e estenderam as mãos.

Ao irmão Pedro Luiz Gama de Carvalho, que mesmo distante sempre esteve aberto para conversas e por me fazer ter confiança nas minhas decisões.

À minha avó Nelly Gama de Carvalho, por sempre me acalmar e conversar sobre todos os assuntos da vida.

Por último, mas não menos importante aos meus pais Sandra Regina Gama de Carvalho e Sergio Ronaldo Xavier Augusto, pela compreensão, amor, carinho e dedicação durante toda a trajetória. Por sempre estarem presentes mesmo a quilômetros de distância, ajudarem sempre que possível e acreditarem no meu potencial.

RESUMO

Microagulhas (MA) compõem uma estratégia pouco invasiva e indolor capaz de aumentar a absorção de fármacos aplicados topicamente em pele. Esse sistema também poderia melhorar a absorção de formulações tópicas aplicadas na cavidade bucal, tendo em vista sua reduzida permeabilidade. A anestesia tópica é um procedimento amplamente realizado em odontologia, porém, as formulações disponíveis comercialmente são falhas. Foi demonstrado que a aplicação tópica de MA na cavidade bucal promove pouco desconforto. O objetivo desse estudo foi avaliar se o pré-tratamento da mucosa palatina com MA melhora a eficácia de um anestésico tópico comercial (AT) durante a anestesia infiltrativa nessa região. Em um estudo cruzado, randomizado e duplo cego, 20 voluntários receberam a aplicação de um *patch* de MA e de um *patch* sem microagulhas (FL) bilateralmente na mucosa palatina (região de primeiro pré-molar), seguida da aplicação do AT durante 2 ou 5 min, em duas sessões. Imediatamente após, uma anestesia infiltrativa foi realizada na região. As dores decorrentes da inserção da agulha e da injeção foram mensuradas em duas escalas analógicas visuais. O uso do pré-tratamento da mucosa com MA seguida do AT por 5-min promoveu menor intensidade de dor à inserção da agulha do que o uso do FL e AT por 2-min ($p < 0,05$, Mann Whitney). Porém, o uso de MA não foi eficaz em melhorar o efeito do AT durante a injeção. Conclui-se que o uso de MA como pré-tratamento da mucosa palatina pode reduzir, mas não eliminar a dor da anestesia infiltrativas em mucosa palatina.

Palavras-chave: Microagulhas. Anestesia tópica. Mucosa oral. Odontologia

ABSTRACT

Microneedles (MN) are a painless and noninvasive strategy capable of increasing the absorption of topically applied drugs to the skin. This system could also improve the absorption of topical formulations applied to the oral mucosa in view of their reduced permeability. Topical anesthesia is a widely-performed procedure in dentistry, but the commercially available formulations are flawed. It has been shown that topical application of MN into the oral cavity promotes little discomfort. The aim of this study was to evaluate whether the pretreatment of the palatal mucosa with MN improves the efficacy of a commercially available topical anesthetic (TA) during infiltrative anesthesia in this region. In a randomized, double-blind crossover study, 20 volunteers received bilaterally a MN *patch* and a *patch* without microneedles (FL) on the palatal mucosa (first premolar region), followed by AT for 2 or 5 min in two sessions. Immediately after, an infiltrative anesthesia was performed. The pain resulting from needle insertion and local anesthetic injection were measured with visual analog scales. The mucosa MN pretreatment followed by TA for 5-min resulted in lower pain intensity at needle insertion than FL for 2-min ($p < 0.05$, Mann Whitney). However, the use of MN was not effective in improving the effect of TA during injection. It is concluded that the use of MN as a pretreatment of the palatal mucosa may reduce but not eliminate the pain of infiltrative anesthesia in the palatal mucosa.

Key words: Microneedles. Topical anesthetic. Oral mucosa. Dentistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 Mucosa oral	12
2.2 Anestesia tópica	13
2.3 Microagulhas	16
3 PROPOSIÇÃO	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Aspectos éticos	21
4.2 Microagulhas	22
4.3 Sistema de aplicação	23
4.4 Confirmação da perfuração da mucosa	25
4.5 Protocolo clínico	25
4.6 Forma de análise dos resultados	27
5 RESULTADOS	28
5.1 Avaliação da dor do novo sistema de aplicação	28
5.2 Avaliação da dor	29
5.3 Segurança das aplicações	30
6 DISCUSSÃO	31
7 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXOS	40
Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio	40
Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa	41
Anexo 3 – Iniciação Científica	42
Anexo 4 – Mensão horosa de apresentação na Jornada Odontologica de Piracicaba	43

1 INTRODUÇÃO

A injeção de anestésicos locais em tecidos densos como a mucosa do palato duro é uma experiência traumática para a maioria dos pacientes. A anestesia local induz ansiedade e medo na maioria dos pacientes, o que pode levar o paciente a necessitar de aconselhamento psicológico e sedação para realizar o tratamento ou, não raro, para evitar atendimento odontológico de rotina (Bariya et al., 2012). Além disso, o medo está associado a uma qualidade insatisfatória da saúde bucal, redução do atendimento odontológico, e aumento do estresse ao tratamento para o dentista (Armfield e Milgrom, 2011).

Anestésicos tópicos são rotineiramente utilizados para reduzir a dor e o desconforto que os pacientes podem experimentar durante injeções odontológicas, punções, biópsias, raspagem periodontal e pequenos procedimentos cirúrgicos em tecidos moles. Embora vários avanços têm ocorrido no tratamento odontológico, os anestésicos tópicos comercialmente disponíveis não promovem uma anestesia superficial eficiente, e a dor associada à aplicação da anestesia local (inserção da agulha e injeção de solução) ainda é um procedimento temeroso na Odontologia (Franz-Montan et al., 2012; Franz-Montan et al., 2017).

A mucosa palatina é conhecida por sua dificuldade em adquirir a anestesia tópica adequada, pois a mucosa, além de possuir um epitélio queratinizado (o que reduz a absorção da droga), está firmemente aderida ao osso (Squier e Brogden, 2011). Como consequência dessa estrutura, o cirurgião dentista frequentemente encontra uma resistência significativa para realizar a injeção da solução anestésica nessa região e, para isto, precisa aplicar maior pressão, causando maior dor, isquemia e possível dano tecidual (Armfield e Milgrom, 2011).

Assim, uma técnica de anestesia tópica capaz de promover uma anestesia local indolor, especialmente em mucosa palatina, poderia ser um avanço significativo no tratamento dental.

Microagulhas são agulhas de no máximo 1500 µm de comprimento, confeccionadas de diferentes tipos de materiais como silicone, metal, aço inoxidável ou titânio. Seu uso causou significativa melhora na absorção tópica de diversos ativos através da pele (via transdérmica), sendo uma alternativa importante à administração do fármaco por via oral e injeções hipodérmicas (Gill et al., 2008; Haq et al., 2009; Gupta et al., 2011), especialmente por seu uso ser praticamente indolor e minimamente invasivo quando comparada com injeção hipodérmica (Gill e Prausnitz, 2007; Bal et al., 2008; Gill et al., 2008).

Esses resultados são possíveis pois as microagulhas são suficientemente longas para atravessar a barreira do estrato córneo e entregar drogas próximo aos capilares sanguíneos, entretanto são suficientemente curtas para não atingir os receptores da dor localizados na camada dérmica (Gill e Prausnitz, 2007b; Bariya et al., 2012). As vantagens associadas ao uso de microagulhas são segurança, procedimento indolor, rentabilidade, facilidade na entrega de moléculas grandes, facilidade de administração, potencial aumento da eficácia do fármaco devido à redução de dose e boa tolerância sem promover edema ou eritema (Prausnitz et al., 2004; Bariya et al., 2012).

A mucosa oral também representa um potencial local para administração tópica de medicamentos, visando tanto o efeito local (mucosa), como o sistêmico (transmucosa) (Hassan et al., 2010). A aplicação tópica de fármacos na mucosa oral apresenta muitas vantagens, tais como a ausência de eliminação pré-sistêmica, degradação gastrointestinal e hepático de primeira passagem, facilidade de administração, e um rápido início de ação (Kulkarni et al., 2009; Hassan et al., 2010). Além disso, a mucosa bucal apresenta uma permeabilidade mais elevada quando comparada com a pele (Squier et al., 1991). No entanto, a mucosa oral é coberta por um epitélio escamoso estratificado, o que representa uma importante barreira de proteção para os tecidos subjacentes e é considerado um passo limitante para a absorção de fármacos (Hassan et al., 2010). A mucosa oral está sendo estudada como um possível local para a aplicação de microagulhas. Foi demonstrado a capacidade de microagulhas revestidas com uma vacina, inseridas no lábio e língua de coelhos em induzir respostas sistêmicas e imunes nas duas mucosas avaliadas (Ma et al., 2014). Também foi demonstrado ser possível revestir microagulhas com lidocaína, um anestésico local comumente utilizado na forma tópica em Odontologia (Ma e Gill, 2014).

Recentemente, foi demonstrado em um primeiro estudo clínico que microagulhas aplicadas na cavidade oral em diferentes regiões induz pouco desconforto em voluntários saudáveis quando comparado com agulha curta de 30G odontológica (Santos, 2019). Estes resultados sugerem que as microagulhas podem ser úteis para a melhorar a absorção de formulações aplicadas topicamente em mucosa oral.

Desta forma, a hipótese desse trabalho foi que o pré-tratamento da mucosa palatina com microagulhas poderia melhorar a qualidade e profundidade da anestesia promovida por um anestésico tópico comercial, aumentando sua eficácia e diminuindo ou eliminando a dor da anestesia local nesta região.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mucosa Oral

A cavidade oral é uma mucosa formada por um epitélio escamoso estratificado (Gandhi 1994), seguido do tecido conjuntivo ou também chamado de lâmina própria (Wertz, 1993). Abaixo da mucosa, há uma área rica em tecido glandular, vasos sanguíneos e nervos, chamada de região submucosa, responsável por irrigar a mucosa (Squier e Brogden, 2011). Porém as regiões da cavidade oral se diferem quanto ao epitélio, que podem ser queratinizado, não queratinizado e especializado. Os epitélios diferem entre si quanto à espessura e composição lipídica, que constituem as principais barreiras, resultando em diferentes graus de permeabilidade (Harris e Robinson, 1992).

Em 1992 Harris e Robinson, revisaram a administração de medicamentos através das membranas mucosas (sublingual e bucal) considerando a administração para terapia sistêmica e local. Para isso foram avaliados a influência da composição e estrutura das mucosas, na permeabilidade dessas mucosas. Foi demonstrado que aplicação tópica em mucosa sublingual promove absorção rápida (menor permeabilidade) o que poderia resultar em boa disponibilidade para pequenos princípios ativos. Já a mucosa bucal foi considerada menos permeável.

Em 2015 Hassan et al., concluíram que a entrega de fármacos pela via transmucosa ainda é muito desafiadora e apresenta diversos obstáculos apesar das diversas vantagens como evitar o metabolismo de primeira passagem e melhorar a adesão do paciente. E ainda, em 1976 Galey estipulou que a mucosa oral é cerca de 4 a 4000 vezes mais permeável do que a pele (Galey et al., 1976). Desta forma, é um desafio entregar fármacos de forma eficiente através da mucosa bucal, bem como os anestésicos tópicos que minimizam a dor e o desconforto do paciente para a punção e injeção dos anestésicos locais de uso odontológico por exemplo. Sendo a mucosa bucal uma barreira altamente complexa, é necessário que o anestésico local da formulação tópica consiga permear esta barreira de maneira mais eficiente e rápida a fim de se obter uma anestesia tópica mais eficiente, oferecendo maior conforto para o paciente.

2.2 Anestesia tópica odontológica

O uso de agentes tópicos eficazes é necessário para a realização de uma anestesia local (inserção da agulha seguida da injeção do anestésico local) indolor. O anestésico local aplicado topicamente deve causar uma diminuição na sensibilidade local e assim diminuir o desconforto do paciente. O anestésico local é utilizado para a realização de bloqueios reversíveis da condução nervosa, controlando a dor durante a realização da maioria dos procedimentos odontológicos (Ogle e Mahjoubi, 2012).

Em 1987 Holst e Evers, desenvolveram um estudo para testar uma nova formulação tópica, a base de uma mistura eutética de prilocaína 2,5% e lidocaína 2,5% (EMLA® 5%). Como esta formulação mostrava ótimas características locais na pele acharam necessidades de investigar sua utilidade clínica nas mucosas e determinar um tempo de aplicação. Neste estudo a formulação teste (EMLA® 5%) foi comparada com a pomada Xylocaine 5% e creme placebo. Os tempos de aplicação variaram entre 2 e 5 minutos. As áreas de aplicação foram: mucosa alveolar vestibular e a mucosa palatina. A dor da inserção de agulha 30G foi registrada. Como resultado encontraram que uma aplicação de Xilocaína 5% e EMLA® 5% durante dois minutos foram suficientes para analgesia vestibular. Porém na mucosa palatina, a dor não foi totalmente bloqueada por nenhuma das formulações, entretanto o EMLA® 5% durante 5 minutos apresentou significativa melhora na percepção da dor quando comparado à Xilocaína 5% e o placebo.

Em 1992 Svensson e Petersen, investigaram a eficiência do EMLA® e do Orahesive® (formulação tópica com composição igual ao EMLA®, porém em forma de adesivo). A dor experimental foi provocada pela inserção de agulhas em duas áreas da região de palato em 20 voluntários saudáveis. A dor, mensurada em uma escala analógica visual (EVA), diminuiu significativamente em relação ao placebo quando as formulações EMLA® e Orahesive® foram utilizadas. Quando utilizaram placebo, nenhuma mudança significativa na percepção de dor foi observada. O creme EMLA® e as bandagens orais foram bem aceitos pelos sujeitos.

Em 1995 Donaldson e Meechan, compararam o uso de EMLA® com um anestésico tópico intraoral comercial à base de lidocaína a 5% (Xylocaine 5%), quanto à capacidade de anestésiar o sulco gengival em um estudo duplo-cego e randomização dos lados bucais. Uma aplicação de 5 minutos de EMLA® resultou em um aumento significativo na profundidade de

sondagem do sulco gengival sem desconforto, em comparação com uma aplicação semelhante de lidocaína a 5%. Após a aplicação do EMLA®, a profundidade de sondagem sem dor, medida em três locais na região pré-molar superior, aumentou em comparação com a lidocaína a 5%. Este estudo sugeriu que o EMLA® pode ser vantajoso no fornecimento de anestesia tópica para sondagem periodontal, onde a manipulação da gengiva é necessária.

Em 2000 Meechan, revisou o uso de anestesia tópica em procedimentos odontológicos. O autor demonstrou que os anestésicos tópicos não garantem anestesia local odontológica sem dor. A eficácia do anestésico tópico depende da duração da aplicação da formulação e do calibre da agulha usada na injeção anestésica. O mesmo autor, em 2002, propôs uma revisão bibliográfica sobre anestesia tópica efetiva e suas técnicas. Assim foi constatado que o primeiro fator crucial seria o anestésico utilizado: a lidocaína é eficaz em concentrações entre 5% e 20%. A combinação de lidocaína a 2,5% e prilocaína a 2,5% demonstrou ser um agente eficaz. A benzocaína é eficaz quando usada sozinha na concentração de 20% e quando combinada na dose de 15% com 1,7% de ametocaína. A mucosa palatina é a mais resistente aos efeitos dos anestésicos tópicos do que outros locais intraorais investigados. Não há evidências de que os anestésicos tópicos tenham algum valor na redução do desconforto das administrações de anestésicos locais em técnica de bloqueio. As diferenças nesses estudos podem ser causadas pelo uso de diferentes estímulos de teste, como o calibre da agulha utilizada e a profundidade da inserção.

Em 2007 Al-Melh e Andersson, compararam o gel de benzocaína a 20% e o EMLA® na dor experimentada durante a punção com agulha 30 G na região palatina na região de caninos. Com uma escala EVA os voluntários registravam a dor a cada 2 minutos durante um período de 10 minutos. Os resultados obtidos mostraram que a aplicação tópica de EMLA® antes da punção palatina está associada a menor dor do que com o uso do gel de benzocaína.

Em 2011 Armfield e Milgrom, avaliaram o medo e estresse em pacientes odontológicos submetidos a procedimentos onde é necessário a utilização de anestesia local. Segundo os autores, o medo e o estresse são problemas clínicos que muitas vezes exigem aconselhamento psicológico cognitivo comportamental e sedação para realizar o tratamento odontológico necessário. Também examinou as associações entre o medo dental e a evasão associadas às experiências negativas relatadas pelos pacientes e à necessidade de tratamento. Há evidências consideráveis de que o medo dentário está relacionado a problemas de saúde bucal, redução do atendimento odontológico e aumento do estresse do tratamento para o

dentista assistente. Existem muitos aspectos de ir ao dentista que podem provocar sentimentos de apreensão, preocupação ou ansiedade em pacientes em potencial. O medo da agulha, em particular, é uma questão importante, uma vez que a administração de anestesia local por injeção é o meio central das técnicas de alívio da dor durante a realização de procedimentos odontológicos. Dentistas e pacientes geralmente evitam injeções e como consequência, ocorre uma deficiência no controle da dor. Em acréscimo, os autores relataram que também pode ocorrer ansiedade e medo de dormência dos tecidos associada ao uso de anestesia local, porém essa é menos descrita na literatura.

Em 2012, Franz-Montan et al., testou a efetividade da anestesia tópica em mucosa palatina de diversas formulações (ropivacaína a 2% encapsulada em lipossomas, ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas, EMLA® e gel de lipossomas placebo). Neste estudo cruzado, randomizado e duplo cego concluíram que nenhum dos anestésicos locais utilizados conseguiu reduzir a dor causada pela injeção do anestésico local no palato na região dos caninos, porém ao utilizar o EMLA®, houve diminuição na dor da punção da agulha (30 G).

Em 2015 de Freiras et al., comparou a eficácia da utilização de anestésico tópico comercial à base de benzocaina 20% e um placebo em reduzir dor durante a anestesia de bloqueio do nervo alveolar superior (NASP) e palatino maior com lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000 e agulha de calibre 27 G. A dor foi avaliada através de uma escala analógica visual (EAV). Não houve diferença estatística entre a percepção dolorosa após o uso do anestésico tópico ou da formulação placebo (Freiras et al., 2015).

Também em 2015 Sanz et al., revisaram diferentes tecnologias utilizadas para aumentar a biodisponibilidade ou os efeitos locais dos medicamentos administrados topicamente em pele e mucosa bucal, uma vez que essa via de administração é um método atraente e pouco invasivo. No entanto, a administração tópica deve superar as barreiras permeáveis que a pele e a mucosa representam para que o fármaco possa alcançar o efeito terapêutico desejado. As tecnologias descritas por esses autores envolvem o uso de promotores físicos ou químicos de absorção e novas formas de carreamento de ativos ou, mais conhecidos como “drug delivery”, como vesículas, ciclodextrinas, nanopartículas e outros sistemas complexos. Os autores concluíram que a combinação dessas tecnologias pode aumentar ainda mais a absorção tópica de medicamentos.

Em 2017 Franz-Montan et al., observou que nem sempre as anestésias tópicas utilizadas previamente a inserção da agulha e injeção dos anestésicos locais são bem-sucedidos e por isso muitos pacientes apresentam medo e ansiedade durante a anestesia local. Por isso diversos estudos buscam novas melhorias nas formulações tópicas, visando a maior permeabilidade e adesão do fármaco no sítio de aplicação. Os autores demonstram que formulações com diferentes nanocarreadores, que melhoram a absorção e biodisponibilidade do princípio ativo, como: lipossomas, ciclodextrinas, sistemas de nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas e transportadores lipídicos nanoestruturados e diferentes formas farmacêuticas: adesivos, sistemas bio e mucoadesivos, e hidrogéis, são eficazes em muitas situações. Métodos físicos promotores de absorção como pré-resfriamento, vibração, iontoforese e microagulhas podem melhorar a permeação de anestésicos tópicos.

Mais especificamente, as microagulhas estão sendo altamente avaliadas como uma nova proposta de aplicação tópica de diversos grupos de fármacos com melhora na entrega do princípio ativo, para efeito local ou sistêmico (Franz-Montan et al., 2017, Gill et al., 2008).

Pode-se observar que não existe um anestésico tópico 100% eficaz para ser utilizado no meio odontológico. Portanto encontrar meios para melhorar permeabilidade do anestésico tópico é um grande desafio. A desenvolvimento de uma anestesia tópica eficaz pode aumentar a adesão dos pacientes ao tratamento odontológico, e diminuir a ansiedade em decorrência da dor.

2.3 Microagulhas

Microagulhas surgem com uma proposta de melhorar a entrega de transdérmica de fármacos, através do rompimento da barreira epitelial, porém sem atingir os receptores de dor. Há três formas em que as microagulhas podem entregar o fármaco de uma forma eficiente, a mais convencional e pioneira, foi o pré-tratamento da pele com microagulhas de aço inoxidável a fim de se criar microcanais no estrato córneo, previamente à aplicação de uma formulação tópica, para que a mesma consiga penetrar a barreira epitelial de maneira eficiente. Outra forma de aplicação descrita são as microagulhas com sistema de injeção, também chamadas de Microjet®, estas já estão sendo comercializadas e funcionam de uma forma semelhante a injeção convencional, porém as agulhas têm tamanho muito reduzido (Dharadhar et al., 2018). Também estão disponíveis microagulhas confeccionadas à base de polímeros, que ficam retidas

no sítio de aplicação como um depósito de medicamento, e apresentam liberação sustentada do ativo enquanto ocorre lenta dissolução do polímero no interior da pele (Bariya et al., 2012). E finalmente as microagulhas revestidas de fármacos, formando um sistema único de aplicação, em que microagulha e formulação são aplicados simultaneamente no sítio de ação (Gill e Prausnitz, 2007; Wermeling et al., 2008; Ma e Gill, 2014; Ma et al., 2015).

Em 2010 Li et al., realizou este estudo para avaliar se o uso das microagulhas para criar perfurações no estrato córneo poderia melhorar a eficácia da anestesia tópica em pele de adultos saudáveis. O estudo foi conduzido em 25 voluntários, os quais tiveram diclonina aplicada na pele do antebraço e logo após as microagulhas foram aplicadas. Um dispositivo simulando o as microagulhas (controle) foi aplicado no outro antebraço. Após as aplicações os níveis de dor associados à aplicação foram avaliados. Logo após, os níveis de dor foram avaliados ao utilizar um estímulo na pele, em intervalos de 5 minutos, durante uma hora. As microagulhas aceleraram significativamente o tempo necessário para a eficácia do anestésico local para a redução da dor e também resultou em diminuição da dor. A aplicação funcional de microagulhas não teve efeitos adversos, e o dispositivo mostrou-se promissor para facilitar a anestesia tópica.

Em 2012 Bariya et al., discutiram em uma revisão de literatura os benefícios do uso das microagulhas. De acordo com os autores, as microagulhas contendo 'cosmecêuticos' estão disponíveis para tratar acne, pigmentação, cicatrizes e rugas, bem como para melhorar o tom da pele, com eficácia comprovada. Ainda, os autores revelaram que o sistema de administração de medicamentos à base de microagulhas pode ser explorado como uma ferramenta potencial para a administração de uma variedade de macromoléculas como insulina, hormônios do crescimento, imunobiológicos, proteínas e peptídeos, que não são efetivamente administradas por técnicas transdérmicas convencionais.

Em 2016 Ornelas et al., investigaram se o pré-tratamento com microagulhas poderia aumentar o efeito anestésico produzido pelo creme de lidocaína, 4% em pele. Os resultados deste estudo indicaram uma melhora a anestesia inicial do creme de lidocaína 4% quando associado ao pré-tratamento com microagulhas. Esses resultados são clinicamente significativos, pois o creme tópico de lidocaína 4%, é normalmente usado para produzir anestesia satisfatória após 60 minutos de aplicação. Os resultados sugerem que o uso de pré-tratamento com microagulhas pode reduzir o tempo de latência anestésica de 30 minutos até 10

minutos em indivíduos mais sensíveis à dor para obter anestesia suficiente para a inserção da agulha.

Em 2007 Gill e Prausnitz, descreveram a padronização de soluções e técnicas de revestimentos para as microagulhas com formulações diferenciadas. Em experimentos realizados em pele de orelha de porco *in vitro* demonstraram que tanto moléculas hidrofílicas quanto hidrofóbicas poderiam revestir as microagulhas uniformemente. Sendo assim, concluíram que as formulações podem ser projetadas para diferentes cenários de administração.

Em 2018 Dharadhar et al., revisaram os diversos tipos de microagulhas existentes. Foi proposto que o uso de microagulhas para aumentar a permeabilidade da pele é capaz de aumentar drasticamente a permeação, especialmente para macromoléculas. As microagulhas podem penetrar através da camada estrato córnea da pele na epiderme viável, evitando o contato com fibras nervosas e vasos sanguíneos que residem principalmente na camada dérmica.

Curiosamente, outros usos das MA foram relatados na literatura. Também em 2018 Thakeshi e Kim, revisaram sobre o rápido desenvolvimento das microagulhas (MA) para monitoramento transdérmico e sistemas de diagnóstico. Além disso, investigações sobre biosensoriamento usando MA são revisadas em termos de aplicabilidade ao sistema de monitoramento contínuo de glicose (SMCG), que é um dos principais focos de pesquisa de tecnologias de engenharia médica. A tendência das MA funcionalizados pode ser categorizada da seguinte forma: (i) como uma sonda de detecção e (ii) como um coletor de fluido biológico. As MA como sensores *in vivo* são principalmente integradas ou revestidas com materiais condutores para ter a função de eletrodos. As MA como coletores de fluidos recebem um determinado desenho geométrico, como uma estrutura oca e porosa, auxiliada por uma ação capilar ou pressão negativa, para extrair os fluidos intersticiais ou o sangue para análise *ex vivo*. Para a realização do SMCG com MA, uma medição precisa a longo prazo pela sonda de detecção baseada em MA ou uma conexão fluídica entre o coletor de fluido baseado em MA e os sistemas de medição microfluídicos existentes deve ser investigados.

Além da melhora na absorção transdérmica descritas, diversos estudos clínicos demonstraram que o uso tópico das microagulhas em pele é um procedimento indolor e minimamente invasivo quando comparado ao uso da agulha em injeções hipodérmicas (Gill et al., 2008, Bal et al., 2012, Haq et al., 2009).

Recentemente, foi descrito um único estudo clínico que avaliou o uso desse sistema na cavidade oral. Santos em 2019 avaliaram a dor decorrente da aplicação tópica de um *patch* contendo 57 microagulhas de aço inox de 750 μm em cinco regiões da mucosa oral (lábio inferior, língua, palato, mucosa jugal e gengiva inserida) e concluíram que a percepção dolorosa das microagulhas foi menor em todos os sítios quando comparadas com a agulha hipodérmica 30G. Porém as microagulhas apresentaram maior percepção dolorosa que o controle negativo em quase todos os sítios, menos na língua. Além disso este estudo comprovou que a aplicação de microagulhas na cavidade oral é segura e minimamente invasiva uma vez que não foi observado nenhuma reação adversa após uso desse sistema na cavidade oral (Santos, 2019).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se o pré-tratamento da mucosa palatina com microagulhas melhora a qualidade e profundidade da anestesia promovida por um anestésico tópico comercial aumentando sua eficácia e diminuindo ou eliminando a dor da inserção da agulha e injeção da solução anestésica durante a anestesia local infiltrativa na região palatina.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Trata-se de um estudo clínico cruzado, randomizado e duplo-cego previamente aprovado pela CONEP (CAAE: 39194814.8.0000.5418). Foram convidados a participar do estudo 20 voluntários homens saudáveis, alunos de graduação e de pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Unicamp. As mulheres foram excluídas pois foi demonstrado que o ciclo menstrual pode afetar a percepção da dor (Pieretti et al., 2016).

Foram considerados voluntários aqueles indivíduos que, após tomarem conhecimento de todos os aspectos da pesquisa, concordaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme a resolução no 466/2012 do CONEP/MS.

Os voluntários escolhidos deveriam estar de acordo com os seguintes critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo.

Critérios de inclusão:

- estudantes homens da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, que já tenham sido submetidos à anestesia local sem intercorrências;
- idade entre 18 e 35 anos, classificados como sadios durante a anamnese clínica;
- aptidão em fornecer consentimento por escrito;
- ausência de ulcerações ou processos inflamatórios na mucosa palatina na região de canino direito e esquerdo;

Critérios de exclusão:

- histórico de hipersensibilidade aos fármacos em estudo;
- evidência de disfunção orgânica ou desvio clinicamente significativo do normal;
- história de doença psiquiátrica que possa comprometer a capacidade de fornecer consentimento por escrito;
- fumantes;
- história de dependência de drogas ou consumo abusivo e/ou frequente de álcool;

- ter sido submetido à anestesia infiltrativa na região nas duas semanas que antecederam ao estudo;
- uso de qualquer medicamento que altere a percepção de dor (analgésicos e anti-inflamatórios) nas duas semanas que antecederam ao estudo.

4.2 Microagulhas

O *patch* contendo as microagulhas foi confeccionado na Faculdade de Engenharia Química, no Laboratório de Imuno-Engenharia e Nano-Medicina da Texas Tech University, EUA (Chemical Engineering School, Texas Technology University – Lubbock, Texas, USA), de acordo com metodologia descrita por Gill e Prausnitz (Gill e Prausnitz, 2007a; Gill e Prausnitz, 2007b) sob coordenação do próprio Prof. Dr. Harvinder Singh Gill, o qual é colaborador do presente projeto de pesquisa (Colaboração estabelecida no Auxílio FAPESP SPRINT, processo nº 2015/50004-8, durante o JP FAPESP processo nº 2012/06974-4).

Brevemente, as microagulhas foram cortadas a partir de lâminas de aço de 75 µm de espessura (Trinity Brand Industries, SS 304; McMaster-Carr, Atlanta, GA, USA), usando um laser infravermelho (Resonetics Maestro, Nashua, NH, USA). Para a realização dos cortes da lâmina de aço, o desenho das microagulhas foi primeiramente feito em um software AutoCAD (Autodesk, Cupertino, CA, USA) e a partir deste desenho, o laser infravermelho foi ajustado em 1000 Hz, 20 J/cm² de densidade de energia, com 40% de atenuação para cortar as microagulhas. Um total de três passagens do laser foram realizadas para completar o corte na lâmina de aço. Foi utilizado a velocidade de 2 mm/s e um jato de ar com pressão constante de 140 KPa. As microagulhas foram preparadas como linhas individuais de agulhas (agulhas “em plano”), ou como duas matrizes bidimensionais de agulhas cortadas no plano da folha de aço inoxidável, e subsequentemente, dobrados em 90° para fora do plano (agulhas “fora do plano”). A dobra das microagulhas foi realizada com uma lâmina de barbear nº 9 com o auxílio de uma Lupa modelo SMZ-171-TLED Marca AREA Scientific.

As microagulhas recém cortadas pelo laser foram limpas manualmente com detergente (Alconox, White Plains, NY, USA), para aplainar a superfície e remover os depósitos de óxido gerados durante o corte com laser, seguido de lavagem completa em água corrente. Após a lavagem das microagulhas, elas foram submetidas a um eletropolimento para remover as irregularidades, impurezas, bem como afiar as suas pontas. Para isso elas foram

imersas em um copo de vidro de 300 mL a 70 °C contendo uma solução de glicerina, ácido orto-fosfórico (85%) e água numa proporção de 6: 3: 1 (v/v) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, USA) sob agitação magnética (150 rpm). Uma placa de cobre foi utilizada como o cátodo, enquanto microagulhas atuarão como o ânodo. O ânodo foi vibrado a uma frequência de 10 Hz durante todo o processo de eletropolimento, usando um dispositivo de vibração construído sob encomenda para ajudar a remover as bolhas de gás geradas na superfície anódica durante o processo. Uma densidade de corrente de 1,8 mA/mm² foi aplicada durante 15 min para o eletropolimento das microagulhas. Depois do eletropolimento, as microagulhas foram limpas por imersão alternada em água deionizada e ácido nítrico 25% (Fisher Scientific) por três vezes, durante 30 s cada. Após esta lavagem, as microagulhas foram lavadas novamente em água corrente aquecida, seguida de uma lavagem final em água corrente deionizada. Em seguida, as microagulhas foram secas com ar comprimido antes de serem armazenadas em recipientes hermeticamente fechados até posterior uso. A espessura final das 7 microagulhas após o processo de eletropolimento deve ser de aproximadamente 50 µm. A figura 1 mostra uma imagem do *patch* de microagulhas que foi utilizado neste estudo.

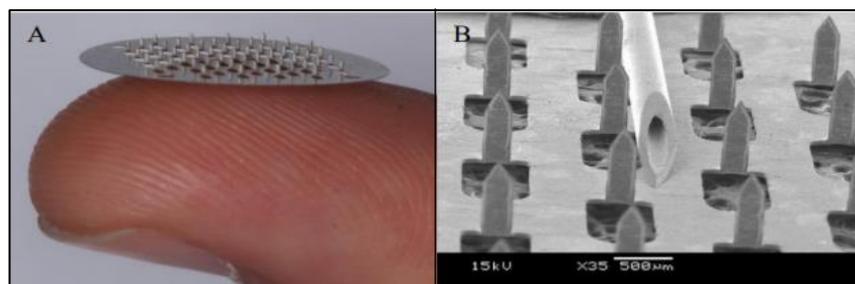


Figura 1 - Patch contendo 57 microagulhas com medida de 750 µm de comprimento posicionado em cima de um dedo. (A) vista de cima; (B) Fotomicrografia obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em comparação com uma agulha hipodérmica 30G (Fonte: Santos, 2019).

4.3 Sistema de aplicação

Um dispositivo para a aplicação do *patch* das microagulhas desenvolvido em um estudo prévio conduzido no laboratório pelo grupo de pesquisa (Santos, 2019) foi adaptado e utilizado no presente trabalho. O dispositivo desenvolvido demonstrou capacidade de inserir as MA de maneira uniforme e perfurar o sítio de aplicação, além de ser passível de ser esterilizado juntamente com o *patch* de microagulhas. Conforme pode ser visualizado na Figura 2, é composto por uma seringa de 5 mL com uma mola de carbono de 2,3 cm no interior (mola

específica cujo material, capacidade de deformação e durabilidade foram pré-determinados para este fim, sem que haja deformação permanente da mola), e o patch de microagulhas fixado no topo do êmbolo.

No presente estudo, foi adicionado uma espuma no topo do êmbolo, antes da fixação do *patch* de microagulhas. Essa espuma garantiu a adaptação das microagulhas junto ao sítio de aplicação, em virtude das irregularidades e rugosidades da mucosa palatina. A força de aplicação das microagulhas foi a mesma utilizada por Santos 2019 (10 N). Foi realizado um estudo piloto (n=5) a fim de se verificar se a espuma poderia afetar a percepção dolorosa pelos voluntários.

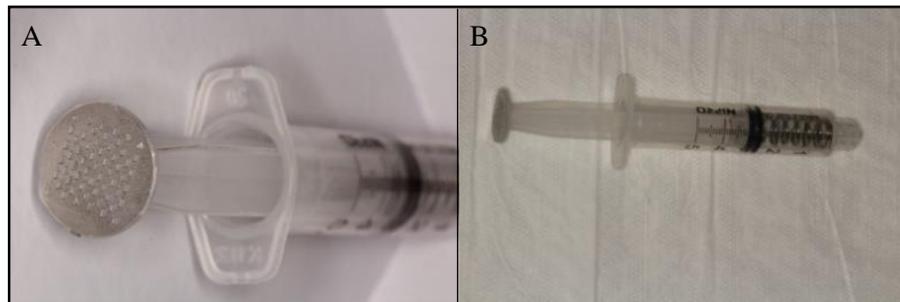


Figura 2 - Dispositivo de aplicação composto por uma seringa de 5 mL com uma mola de carbono no seu interior, com o patch de microagulha fixado no topo do êmbolo sendo (A) vista de cima e (B) vista lateral.

A deformação da mola em 2 mm ou uma unidade da seringa foi capaz de produzir uma força de 10N (1 Kg na balança analítica) (Figura 3) (Santos, 2019)

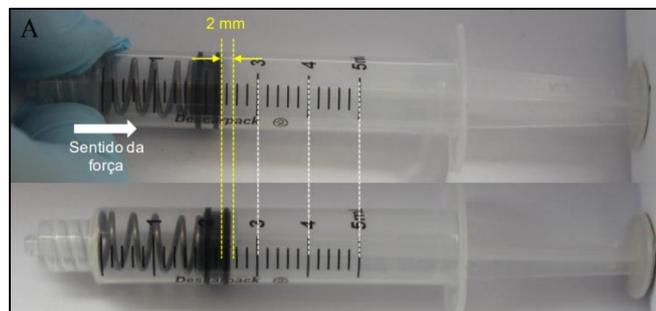


Figura 3 - Dispositivo com a mola em seu interior; a movimentação deveria ser de uma unidade ou um “risco” para que a força de aplicação fosse equivalente a aproximadamente 1 Kg.

4.4 Confirmação da perfuração da mucosa

A confirmação da perfuração da mucosa utilizando o sistema de aplicação com a espuma foi avaliada em um estudo piloto (n=5). Após a aplicação das microagulhas bilateralmente na mucosa com o sistema “convencional” e contendo a “espuma”, as regiões foram coradas com violeta genciana 1%, a fim de se evidenciar os microfuros promovidos pelas microagulhas.

4.5 Protocolo clínico

O protocolo do presente estudo foi baseado nos trabalhos prévios desenvolvidos pelo grupo de pesquisa (Franz-Montan et al., 2012; Franz-Montan et al., 2015). Os voluntários tiveram a região de mucosa palatina bilateral seca com o auxílio de uma gaze estéril. Em seguida, a mucosa palatina bilateral foi pré-tratada com o *patch* de microagulhas (MA) ou com o controle negativo - *patch* idêntico sem microagulhas (FL) (força de 10 N) seguida da aplicação de 100 mg da formulação comercial EMLA® (AstraZeneca) durante 2 ou 5 minutos, em duas sessões clínicas. A sequência de aplicação dos tratamentos (MA ou FL), o tempo de aplicação de 2 ou 5 min e o lado de aplicação foram randomizados.

Imediatamente após a remoção da formulação tópica, uma agulha 30G ligada a uma seringa de aspiração do tipo Carpule® foi inserida no local de aplicação até o contato com o periosteio. Após a inserção da agulha, cerca de 0,3 mL de uma solução de lidocaína a 2% com 1: 100.000 epinefrina (Alphacaine® - DFL Ind Ltda) foi injetada lentamente (1 mL/min). Os voluntários foram informados sobre a inserção da agulha e injeção da solução anestésica. Foi solicitado que os voluntários avaliassem a dor separadamente nos dois momentos utilizando duas escalas analógicas visuais (EAV).



Figura 4 - Procedimento de pesagem do anestésico local EMLA®. (A) Seringa de 1 mL contendo 100 mg de EMLA® e embalagem do produto.

A EAV consiste em uma linha de 10 cm de comprimento, sem marcações contendo na extremidade esquerda o termo “sem dor” e, na extremidade direita “dor insuportável”. Nessa escala, foi solicitado que o voluntário fizesse um traço vertical nessa linha, onde ele considerou que descreveu a intensidade dolorosa do procedimento.

As sessões de avaliações foram realizadas no Consultório Odontológico da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, Avenida Limeira, 901, Vila Areião, CEP: 13414-903, Piracicaba, São Paulo.

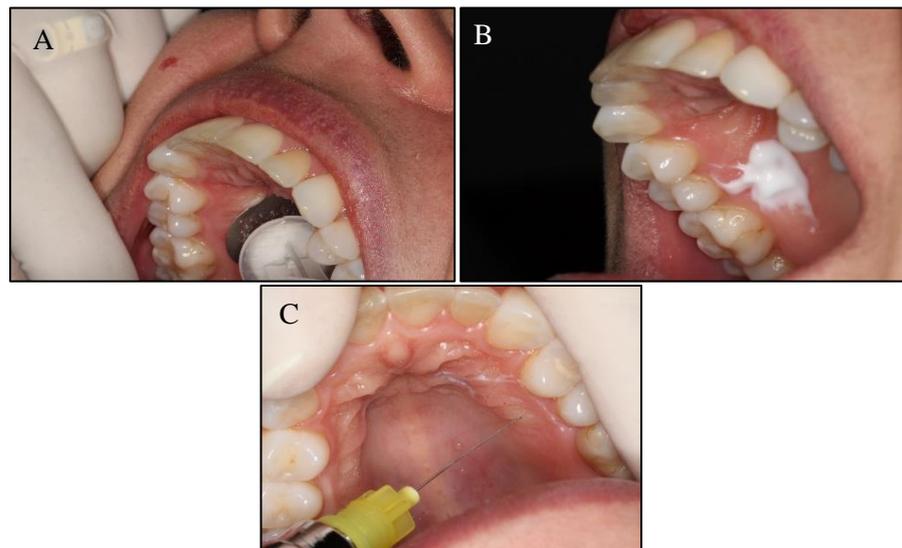


Figura 5 – Sequência dos procedimentos clínicos realizados: (A) Perfuração da mucosa com a aplicação da microagulha com espuma, (B) Aplicação do anestésico tópico (2 ou 5 minutos) e (C) Perfuração e injeção do anestésico local.

O local de aplicação das microagulhas, da aplicação do anestésico tópico e inserção da agulha e anestésico local foi avaliado visualmente imediatamente após a sessão clínica e no dia seguinte (24 h depois dos tratamentos) e qualquer sinal de reação adversa como sangramento, hematoma, ulceração, equimose ou edema foi anotado.

4.6 Forma de análise dos resultados

As Escalas Visuais Analógicas foram avaliadas por um pesquisador-cego, que mediu com o auxílio de uma régua milimétrica a distância entre a extremidade esquerda (sem dor) e marca feita por cada voluntário na linha de escala.

Para se testar a hipótese nula de que qualquer diferença encontrada nos tratamentos deva ser devida meramente ao acaso, esses dados foram testados quanto à normalidade da distribuição (teste de Shapiro-Wilks) e equivalência das variâncias (teste de Levene) e, posteriormente, submetidos aos testes estatísticos apropriados. Os resultados obtidos com a EAV foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de 5%. O software utilizado foi o GraphPad Prism 7 for Mac OS X.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da dor do novo sistema de aplicação

A dor e desconforto associado à aplicação das microagulhas através do dispositivo “convencional” e com “espuma” avaliados através da EAV encontra-se na Figura 6. Não houve diferença significativa na percepção dolorosa pelos voluntários da aplicação das microagulhas utilizando os dois sistemas de aplicação ($p>0,05$). Desta forma, prosseguimos o estudo utilizando o sistema de aplicação adaptado com espuma.

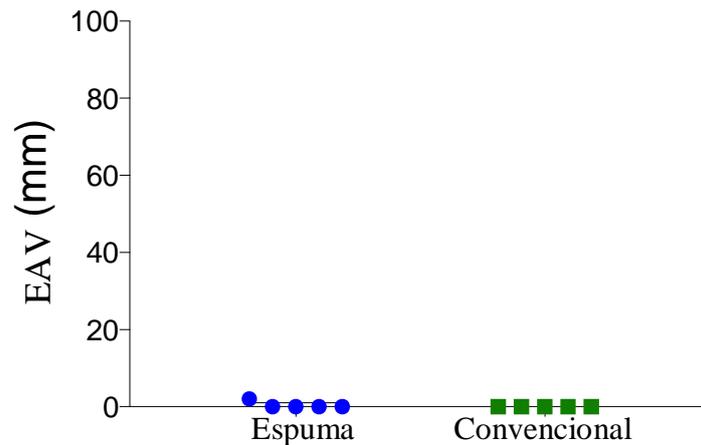


Figura 6 – Mediana (desvio interquartílico) da percepção de dor avaliada através da EAV (VAS) decorrente da aplicação bilateral do patch de microagulhas utilizando o dispositivo convencional ou com espuma na mucosa palatina na região de canino. Mann Whitney, $p>0,05$ ($n=5$).

5.1 Confirmação da capacidade de perfuração da mucosa palatina utilizando novo sistema de aplicação

A Figura 4 ilustra as regiões coradas que foram perfuradas com o sistema de aplicação convencional descrito por Santos (2019) e o sistema adaptado com espuma. Foi possível confirmar que a presença da espuma não interferiu a capacidade de perfuração das microagulhas, conforme ilustram as regiões fotografadas (Figura 4).



Figura 4 - Fotos realizadas da mucosa palatina, imediatamente após a aplicação do “patch” de microagulhas e evidenciação dos microfuros com violeta genciana 1%. (A) Foto realizada com dispositivo convencional; (B) Foto realizada com dispositivo adaptado com espuma.

5.2 Avaliação da dor

Considerando a variável dor (medida pela EAV), o cálculo do poder do teste (software G*Power) revelou que para as diferenças mínimas (e os desvios médios observados) entre os grupos verificadas para a dor à inserção da agulha e à injeção na mucosa do palato, a presente amostra de 20 voluntários permitiu um poder de 65,8% para a dor à inserção da agulha e de 36,3% para dor à injeção, para um nível de significância de 5%. A dor e desconforto associado à inserção da agulha e à injeção do anestésico local na mucosa palatina após a aplicação por 2 ou 5 min do anestésico tópico EMLA® seguido do pré-tratamento da região com microagulhas ou com controle negativo avaliados através da EAV encontra-se na Figura 8.

Não houve diferença significativa da percepção dolorosa pelos voluntários à inserção da agulha (Figuras 8A e 8C) ou à injeção (Figuras 8B e 8D) quando a mucosa foi pré-tratada com microagulhas ou com controle negativo após 2 ou 5 min de aplicação do anestésico tópico EMLA® ($p > 0,05$). No entanto, considerando dor à inserção da agulha, observamos que a aplicação do EMLA® por 5 minutos em mucosa pré-tratada com microagulhas promoveu significativamente menor dor do que a aplicação por 2 minutos em mucosa pré-tratada com o controle negativo ($p < 0,05$, KruskalWallis).

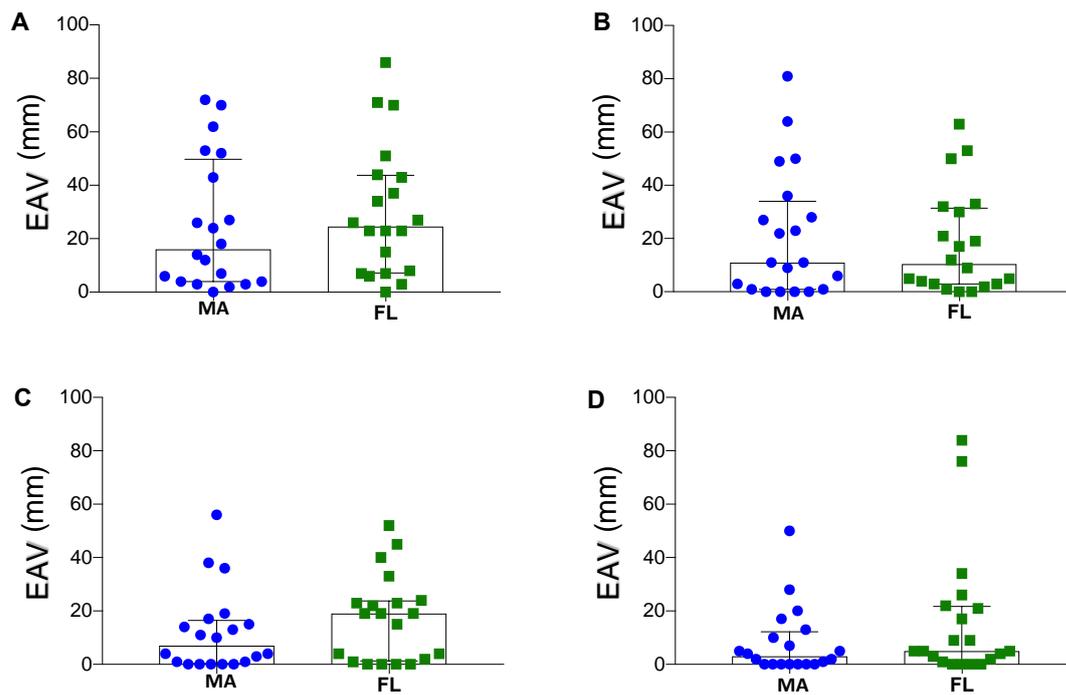


Figura 8 – Mediana (desvio interquartílico) da percepção de dor avaliada através da EAV decorrente da punção (A e C) e da injeção do anestésico local (B e D) na mucosa palatina após a aplicação por 2 (A e B) ou 5 min (C e D) do anestésico tópico EMLA® seguido do pré-tratamento da região com microagulhas (MA) ou com controle negativo (FL). KruskalWallis, $p > 0,05$ (n=20).

5.3 Segurança das aplicações

Não foi observado nenhum efeito adverso (sangramento, hematoma, ulceração, equimose ou edema) no momento das aplicações e no dia seguinte (24h), comprovando que as microagulhas são seguras para aplicação em cavidade oral.

6 DISCUSSÃO

Muitos pacientes apresentam medo e ansiedade ao ir ao dentista. Principalmente, pelo atendimento estar ligado a sensação dolorosa, que pode ser relacionada a experiências traumáticas (Armfield e Milgrom, 2011). Por conta disso, o dentista deve saber meios de contornar essa sensação dolorosa. Regularmente utilizamos anestésicos tópicos que tendem a ser eficazes, porém em tecidos densos e queratinizados (como a mucosa palatina), nos quais é preciso aplicar maior pressão para a injeção do anestésico local e há menor perfusão do agente local pela queratinização da mucosa e maior aderência da mucosa ao osso palatino, não há tanta eficácia quanto deveria (Ogle e Mahjoubi, 2012). Assim, iniciamos o processo de pesquisa para encontrar novos meios de controle de dor dos pacientes.

O presente estudo avaliou, pela primeira vez na literatura, o efeito do pré-tratamento da mucosa bucal com microagulhas na eficácia de um anestésico tópico comercial aplicado sobre a região palatina em reduzir dor à inserção da agulha e injeção de um anestésico local.

Nesse estudo clínico, cruzado e randomizado, a agulha hipodérmica foi inserida até o periósteo, por conta das diferenças na anatomia não foi possível simular uma injeção subcutânea, que seria a inserção de 5 mm de agulha, conforme descrito anteriormente (Gill et al., 2008).

Apesar da diferente inserção da agulha realizada na mucosa palatina, os resultados foram semelhantes e demonstraram que a inserção da agulha hipodérmica causa maior desconforto do que a aplicação tópica de microagulhas, conforme descrito recentemente por Santos (2019). No entanto, foi demonstrado que apesar das microagulhas promoverem um menor desconforto quando comparada a utilização das agulhas 30G, as microagulhas induziram maior desconforto quando comparadas ao controle negativo, similar ao estudo de Santos et al., que demonstraram que as microagulhas apresentam menor percepção dolorosa em diversas regiões da cavidade oral quando comparado com a agulha hipodérmica 30G, incluindo no palato (Santos, 2019). Esses resultados também foram encontrados em estudos realizados na pele, conduzidos por Gill e seus colaboradores (2008) onde a aplicação foi realizada na pele do antebraço (Gill et al., 2008).

Sobre o tamanho das microagulhas, foram escolhidas em 750 μm por representar uma média entre (150 μm – 1500 μm) que são encontradas em estudos realizados em pele (Gill et al., 2008; Haq et al., 2009). Foi relatado que microagulhas mais longas que 1500 μm , houve relato de percepção dolorosa igual quando comparadas com agulhas hipodérmicas 26G (Gupta et al., 2011). Além disso, foi demonstrado por Santos em 2019 que microagulhas de 750 μm

são suficientemente longas para perfurar as diversas regiões da cavidade oral, incluindo a região do palato e ao mesmo tempo apresentam percepção dolorosa inferior à agulha hipodérmica 30G, comprovando que o comprimento escolhido das microagulhas são ideais para aplicação em cavidade oral (Santos, 2019).

Para as agulhas usadas na infiltração do anestésico local, utilizamos agulhas com menor calibre (30G), por conta de serem as mais utilizadas no meio odontológico para anestésias realizadas pela técnica infiltrativa, diferentemente dos estudos em pele os quais utilizam agulhas mais calibrosas (26G) (Reed et al., 2012).

Neste estudo comprovamos que as microagulhas são seguras para aplicação na cavidade oral, pois nenhum efeito adverso (sangramento, hematoma, ulceração, equimose ou edema) foi observado o que corrobora com o único estudo realizado na cavidade oral de humanos por Santos et al., em 2019, concluindo que as microagulhas são seguras (Santos, 2019).

Alguns estudos clínicos demonstraram que o uso de microagulhas como pré-tratamento da pele pode melhorar a eficácia de anestésicos tópicos (Li et al., 2010; Buhsem et al., 2016, Ornelas et al., 2016).

Li et al., (2010) demonstraram que o pré-tratamento de antebraços durante 20 segundos com um sistema composto de 400 microagulhas de 70 μm foi eficaz em reduzir o tempo de latência de 60 para 20 minutos da diclonina a 1% e reduziu dor à inserção de agulha hipodérmica 20G na pele de antebraços de 25 voluntários sadios (Li et al., 2010).

Em um estudo clínico realizado em 47 pacientes submetidos à terapia com laser na face, os pacientes foram submetidos à aplicação do anestésico tópico EMLA em ambos lados da face, seguido da aplicação por quatro vezes de microagulhas de 1000 μm pelo sistema Roller® somente no lado direito. Após 30 minutos de aplicação do EMLA®, a terapia à laser foi realizada em toda face. Os voluntários apresentaram menor percepção dolorosa ao tratamento no lado direito da face, demonstrando que as microagulhas melhorou a eficácia do EMLA® em redução do desconforto para realização deste procedimento (Buhsem et al., 2016).

De maneira semelhante, no presente estudo foi possível demonstrar que o pré-tratamento da mucosa bucal com microagulhas (57 microagulhas de 750 μm) melhorou a

eficácia do anestésico tópico EMLA® aplicado por 5 minutos em relação à aplicação por 2 minutos em reduzir dor à inserção da agulha, porém não à injeção da solução anestésica.

Ornelas et al., 2016 demonstraram que as microagulhas de 200 µm organizadas em um sistema Roller® pré-aplicada em pele de antebraço de 21 voluntários somente foi eficaz em reduzir dor à inserção da agulha após 30 minutos de aplicação de um creme de Lidocaína a 4%. Após tempos de aplicação inferiores (2, 5 e 10 minutos), não houve diferença significativa na percepção dolorosa dos voluntários entre as regiões tratadas ou não com as microagulhas (Ornelas et al., 2016). Os resultados que demonstraram melhora do efeito do anestésico tópico em pele pré-tratada com microagulhas (Li et al., 2010; Buhsem et al., 2016; Ornelas et al., 2016) podem ser principalmente atribuídos ao tempo de aplicação da formulação tópica. No presente estudo, o anestésico tópico foi aplicado por no máximo 5 minutos. Esse tempo de aplicação é o comumente utilizado na prática odontológica (Meechan, 2002).

Nos estudos clínicos realizados em pele descritos acima, tempos de aplicação superiores a 16 minutos foram necessários para demonstrar a melhora da eficácia do anestésico tópico promovido pelo pré-tratamento com as microagulhas (Li et al., 2010; Buhsem et al., 2016; Ornelas et al., 2016).

Apesar da pele apresentar uma permeabilidade cerca de 4000 vezes menor que a mucosa oral (Shojaei, 1998), o que poderia resultar na necessidade de um tempo menor de aplicação da formulação tópica em relação à pele, a eficiência da barreira do epitélio da mucosa oral é conhecida e a eficácia na absorção de fármacos aplicados topicamente na cavidade bucal ainda é um desafio em “drug delivery” (de Vries et al., 1991; Kulkarni et al., 2009; Hassan et al., 2010; Hu et al., 2011; Sanz et al., 2015; Franz-Montan et al., 2017). Especificamente, a eficácia de anestésicos tópicos comerciais de uso odontológico é questionada, e já foi demonstrado em diversos estudos não reduzir dor especialmente durante a injeção da solução anestésica em mucosa palatina (Sattayut, 2014; de Freiras et al., 2015; Franz-Montan et al., 2015; Franz-Montan et al., 2017).

A mucosa palatina apresenta um epitélio estratificado queratinizado que apresenta a menor permeabilidade dentre os epitélios que revestem a cavidade bucal (Lesch et al., 1989; Harris e Robinson, 1992). Essa reduzida permeabilidade, assim como a da pele, poderia justificar a necessidade da aplicação da formulação do anestésico tópico por tempos superiores a 5 minutos após o pré-tratamento do sítio de aplicação com microagulhas, para demonstrar a

melhora em seu efeito, visto que tempos de aplicação superiores a 20 minutos são relatados para pele (Li et al., 2010; Buhsem et al., 2016; Ornelas et al., 2016). No entanto, considerando um tempo de aplicação do anestésico tópico usualmente realizado no consultório odontológico, tempos de aplicação superiores a 10 minutos não são praticados na Odontologia, por conta da necessidade de atendimentos rápidos e eficazes. A maioria dos trabalhos envolvendo a eficácia de formulações tópicas na cavidade oral relatam tempos de aplicação que variam de 0,5 a 5 min (Meechan, 2000). Além disso, foi relatado por Franz-Montan que EMLA® quando aplicado em mucosa oral por 30 minutos pode causar ulceração, portanto o tempo de 2 e 5 minutos foi adequado e seguro para que não ulcerasse a mucosa dos voluntários (Franz-Montan et al., 2008).

Holst e Evers (1985) compararam a eficácia de Lidocaína a 5% 17 (Xylocaína) e do EMLA após 2 e 5 min de aplicação em mucosa vestibular na mandíbula e mucosa palatina. Eles demonstraram que em mucosa vestibular, ambas formulações comerciais foram eficazes a partir de 2 min de aplicação. Porém, em mucosa palatina, eles observaram uma melhora do efeito anestésico somente após 5 minutos de aplicação, e somente o EMLA foi eficaz (Holst e Evers, 1985). Por este motivo, decidimos avaliar no presente estudo, a eficácia do EMLA por 2 e 5 min de aplicação. De maneira semelhante, para este estudo, considerando dor à inserção da agulha, observamos que a aplicação do EMLA por 5 minutos em mucosa pré-tratada com microagulhas promoveu significativamente menor dor do que a aplicação por 2 minutos em mucosa pré-tratada com o controle negativo ($p < 0,05$, Kruskal-Wallis), corroborando com outros estudos da literatura que demonstraram que a anestesia tópica é falha em reduzir dor durante este procedimento odontológico (Sattayut, 2014; de Freiras et al., 2015; Franz-Montan et al., 2015; Franz-Montan et al., 2017).

Desta forma, aplicação tópica do EMLA® por tempo superior a 5 minutos pode ser necessária para demonstrar melhora do efeito anestésico em mucosa palatina pré-tratada com microagulhas em reduzir dor durante a injeção da solução anestésica.

7 CONCLUSÃO

O pré-tratamento da mucosa palatina com microagulhas sólidas de aço inox de 750 μm aumentou a eficácia do anestésico tópico EMLA® em reduzir dor durante a inserção da agulha, porém não foi eficaz em reduzir dor durante a injeção da solução anestésica. Desta forma, o uso de microagulhas reduziu, mas não eliminou a dor decorrente da anestesia infiltrativas em mucosa palatina.

REFERÊNCIAS*

Al-Melh MA, Andersson L. Comparison of topical anesthetics (EMLA/Oraqix vs. benzocaine) on pain experienced during palatal needle injection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 May;103(5):e16-20.

Armfield JM, e Milgrom P. A clinician guide to patients afraid of dental injections and numbness. *SAAD Dig* 2011.

Bal SM, Caussin J, Pavel S, Bouwstra JA. In vivo assessment of safety of microneedle arrays in human skin. *Eur J Pharm Sci.* 2008 Oct 2;35(3):193-202. doi: 10.1016/j.ejps.2008.06.016.

Bal SM, Slütter B, Verheul R, Bouwstra JA, Jiskoot W. Adjuvanted, antigen loaded N-trimethyl chitosan nanoparticles for nasal and intradermal vaccination: adjuvant- and site-dependent immunogenicity in mice. *Eur J Pharm Sci.* 2012 Mar 12;45(4):475-81. doi: 10.1016/j.ejps.2011.10.003.

Bariya SH, Gohel MC, Mehta TA, e Sharma OP. Microneedles: an emerging transdermal drug delivery system. *J Pharm Pharmacol* 2012;64:11–29. doi:10.1111/j.20427158.2011.01369.x.

Boink MA, van den Broek LJ, Roffel S, Nazmi K, Bolscher JG, Gefen A, et al. Different wound healing properties of dermis, adipose, and gingiva mesenchymal stromal cells. *Wound Repair Regen.* 2016 Jan-Feb;24(1):100-9. doi:10.1111/wrr.12380.

Buhsem Ö, Aksoy A, Kececi Y, Sir E, Güngör M. Increasing topical anesthetic efficacy with microneedle application. *J Cosmet Laser Ther.* 2016 Oct;18(5):286-8. doi: 10.3109/14764172.2016.1157362.

de Freiras GC, Pozzobon RT, Blaya DS, Moreira CH. Efficacy of Benzocaine 20% Topical Anesthetic Compared to Placebo Prior to Administration of Local Anesthesia in the Oral Cavity: A Randomized Controlled Trial. *Anesth Prog.* 2015 Summer;62(2):46-50. doi: 10.2344/0003-3006-62.2.46.

de Vries ME, Boddé HE, Verhoef JC, Junginger HE. Developments in buccal drug delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 1991;8(3):271-303.

Dharadhar S, Majumdar A, Dhoble S, Patravale V. Microneedles for transdermal drug delivery: a systematic review. *Drug Dev Ind Pharm.* 2019 Feb;45(2):188-201. doi:10.1080/03639045.2018.1539497.

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

- Donaldson D, Meechan JG. A comparison of the effects of EMLA cream and topical 5% lidocaine on discomfort during gingival probing. *Anesth Prog.* 1995;42(1):7-10.
- Franz-Montan M, Baroni D, Brunetto G, Sobral VR, da Silva CM, Venâncio P, et al. Liposomal lidocaine gel for topical use at the oral mucosa: characterization, in vitro assays and in vivo anesthetic efficacy in humans. *J Liposome Res.* 2015 Mar;25(1):11-9. doi: 10.3109/08982104.2014.911315.
- Franz-Montan M, de Paula E, Groppo FC, Silva AL, Ranali J, Volpato MC. Liposomal delivery system for topical anaesthesia of the palatal mucosa. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012 Jan;50(1):60-4. doi: 10.1016/j.bjoms.2010.10.018.
- Franz-Montan M, Ranali J, Ramacciato JC, de Andrade ED, Volpato MC, Groppo FC. Ulceration of gingival mucosa after topical application of EMLA: report of four cases. *Br Dent J.* 2008 Feb 9;204(3):133-4. doi: 10.1038/bdj.2008.48.
- Franz-Montan M, Ribeiro LNM, Volpato MC, Cereda CMS, Groppo FC, Tofoli GR, de Araújo DR, Santi P, Padula C, de Paula E. Recent advances and perspectives in topical oral anesthesia. *Expert Opin Drug Deliv.* (2017b) May;14(5):673-684. doi: 10.1080/17425247.2016.1227784.
- Galey WR, Lonsdale HK, Nacht S. The in vitro permeability of skin and buccal mucosa to selected drugs and tritiated water. *J Invest Dermatol.* 1976 Dec;67(6):713-7.
- Gandhi RB, Robinson JR. Oral cavity as a site for bioadhesive drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1994;13:43-74.
- Gill HS, Denson DD, Burris B a, e Prausnitz MR. Effect of microneedle design on pain inhuman subjects. *Clin J Pain* 2008;24:585–94. doi:10.1097/AJP.0b013e31816778f9.
- Gill HS, Prausnitz MR. Coating formulations for microneedles. *Pharm Res.* (2007a) Jul;24(7):1369-80.
- Gill HS, Prausnitz MR. Does needle size matter? *J Diabetes Sci Technol.* (2007b) Sep;1(5):725-9.
- Gupta J, Park SS, Bondy B, Felner EI, e Prausnitz MR. Infusion pressure and pain during microneedle injection into skin of human subjects. *Biomaterials* 2011;32:6823–31. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.05.061.
- Haq MI, Smith E, John DN, Kalavala M, Edwards C, Anstey A, et al. Clinical administration of microneedles: skin puncture, pain and sensation. *Biomed Microdevices.* 2009 Feb;11(1):35-47. doi: 10.1007/s10544-008-9208-1.
- Harris D, Robinson JR. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity. *J Pharm Sci.* 1992 Jan;81(1):1-10.

Harris D, Robinson JR. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity. *J Pharm Sci.* 1992 Jan;81(1):1-10.

Hassan N, Ahad A, Ali M, Ali J. Chemical permeation enhancers for transbuccal drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2010 Jan;7(1):97-112. doi: 10.1517/17425240903338758.

Holst A, Evers H. Experimental studies of new topical anaesthetics on the oral mucosa. *Swed Dent J.* 1985;9(5):185-91.

Kulkarni U, Mahalingam R, Pather SI, Li X, Jasti B. Porcine buccal mucosa as an in vitro model: relative contribution of epithelium and connective tissue as permeability barriers. *J Pharm Sci.* 2009 Feb;98(2):471-83. doi: 10.1002/jps.21436.

Lesch CA, Squier CA, Cruchley A, Williams DM, Speight P. The permeability of human oral mucosa and skin to water. *J Dent Res.* 1989 Sep;68(9):1345-9.

Li X, Zhao R, Qin Z, Zhang J, Zhai S, Qiu Y, et al. Microneedle pretreatment improves efficacy of cutaneous topical anesthesia. *Am J Emerg Med.* 2010 Feb;28(2):130-4. doi: 10.1016/j.ajem.2008.10.001.

Ma Y, & Gill HS. Coating solid dispersions on microneedles via a molten dip-coating method: Development and in vitro evaluation for transdermal delivery of a water-insoluble drug. *J Pharm Sci* 2014a;103:3621–30. doi:10.1002/jps.24159.

Ma Y, Tao W, Krebs SJ, Sutton WF, Haigwood NL, Gill HS. Vaccine delivery to the oral cavity using coated microneedles induces systemic and mucosal immunity. *Pharm Res.* 2014 Sep;31(9):2393-403. doi: 10.1007/s11095-014-1335-1.

Meechan JG. Effective topical anesthetic agents and techniques. *Dent Clin North Am.* 2002 Oct;46(4):759-66.

Meechan JG. Intra-oral topical anaesthetics: a review. *J Dent.* 2000 Jan;28(1):3-14.

Ogle OE, Mahjoubi G. Local anesthesia: agents, techniques, and complications. *Dent Clin North Am.* 2012 Jan;56(1):133-48, ix. doi: 10.1016/j.cden.2011.08.003.

Ornelas J, Foolad N, Shi V, Burney W, Sivamani RK. Effect of Microneedle Pretreatment on Topical Anesthesia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Dermatol.* 2016 Apr;152(4):476-7. doi: 10.1001/jamadermatol.2015.5544.

Pieretti S, Di Giannuario A, Di Giovannandrea R, Marzoli F, Piccaro G, Minosi P, et al. Gender differences in pain and its relief. *Ann Ist Super Sanita [s.d.];*52:184–9. doi:10.4415/ANN_16_02_09.

Prausnitz MR, Mitragotri S, & Langer R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:115–24. doi:10.1038/nrd1304.

Reed KL, Malamed SF, & Fonner AM. Local anesthesia part 2: technical considerations. *Anesth Prog* 2012;59:127–36; quiz 137. doi:10.2344/0003-3006-59.3.127.

Sanz R, Calpena AC, Mallandrich M, Clares B. Enhancing topical analgesic administration: review and prospect for transdermal and transbuccal drug delivery systems. *Curr Pharm Des.* 2015;21(20):2867-82.

Shojaei AH. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review. *J Pharm Pharm Sci.* 1998 Jan-Apr;1(1):15-30.

Squier CA, & Brogden K. *Human Oral Mucosa*. 1o ed. wiley-blackwell; 2011.

Squier CA, Cox P, Wertz PW. Lipid content and water permeability of skin and oral mucosa. *J Invest Dermatol.* 1991 Jan;96(1):123-6.

Svensson P, Petersen JK. Anesthetic effect of EMLA occluded with Orahesive oral bandages on oral mucosa. A placebo-controlled study. *Anesth Prog.*1992;39(3):79-82.

Takeuchi K, e Kim B. Functionalized microneedles for continuous glucose monitoring. *Nano Converg* 2018;5:28. doi:10.1186/s40580-018-0161-2.

Wermeling DP, Banks SL, Hudson DA, Gill HS, Gupta J, Prausnitz MR, et al., Microneedles permit transdermal delivery of a skin-impermeant medication to humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Feb 12;105(6):2058-63. doi: 10.1073/pnas.0710355105.

ANEXOS

Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio

EFICÁCIA DE UM ANESTÉSICO TÓPICO APLICADO EM MUCOSA PALATINA PRÉ-TRATADA COM MICROAGULHAS

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

1 %	2 %	1 %	2 %
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS

FONTES PRIMÁRIAS

1	Submitted to Universidade Estadual de Campinas	1 %
	Documento do Aluno	

Excluir citações Em Excluir correspondências < 1%
 Excluir bibliografia Em

Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Avaliação da dor e a eficácia anestésica através da aplicação tópica de microagulhas: ensaio clínico randomizado", CAAE 42926115.3.0000.5418, dos pesquisadores Michelle Franz Montan Braga Leite, Nadia Cristina Favaro Moreira, Hortência Maria Xavier de Sousa, Gabriela Gama Xavier Augusto e Stephany Di Carla Santos, satisfaz as exigências das resoluções específicas sobre ética em pesquisa com seres humanos do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde e foi aprovado por este comitê em sua versão original 24/04/2015 e na versão emendada em 05/09/2018.

The Research Ethics Committee of the Piracicaba Dental School of the University of Campinas (FOP-UNICAMP) certifies that research project "Evaluation of pain and anesthetic efficacy after topical application of microneedles: a randomized clinical trial", CAAE 42926115.3.0000.5418, of the researcher's Michelle Franz Montan Braga Leite, Nadia Cristina Favaro Moreira, Hortência Maria Xavier de Sousa, Gabriela Gama Xavier Augusto and Stephany Di Carla Santos, meets the requirements of the specific resolutions on ethics in research with human beings of the National Health Council - Ministry of Health, and was approved by this committee on 24th of April of 2015 (original version) and 05th of September of 2018 (amended version).

Profa. Fernanda Miori Pascon

Vice Coordenador
 CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Jacks Jorge Junior

Coordenador
 CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo e a lista de autores aparecem como fornecidos pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
 Notice: The title and the list of researchers of the project appears as provided by the authors, without editing.

Anexo 3 – Iniciação Científica



DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que **GABRIELA GAMA XAVIER AUGUSTO** recebe/recebeu auxílio da **FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO**, na(s) categoria(s):

Bolsa no País - Regular - Iniciação Científica

Processo: 2017/19032-0

Título: Eficácia de um anestésico tópico aplicado em mucosa palatina pré-tratada com microagulhas

Instituição: FAC ODONTOLOGIA PIRACICABA/UNICAMP

Período: 01/01/2018 a 31/12/2018

Orientador Prof(a). Dr(a).: MICHELLE FRANZ MONTAN BRAGA LEITE

As bolsas outorgadas pela **FAPESP** são desenvolvidas em regime de dedicação exclusiva e não correspondem a qualquer espécie de emprego ou vínculo empregatício, eis que não configuram contrato de trabalho e, em consequência, não objetivam pagamento de salários.

São Paulo, 27 de Agosto de 2019.

Anexo 4 – Mensão horosa de apresentação na Jornada Odontologica de Piracicaba



CERTIFICADO

A XXVI Jornada Odontológica de Piracicaba, realizada de 22 a 24 de maio de 2019, na Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, SP, Brasil, atribui "**MENÇÃO HONROSA**" a **GABRIELA GAMA XAVIER AUGUSTO**, pela apresentação do trabalho científico, na modalidade **PAINEL** - Categoria Graduandos - Área Básica, intitulado "**Topical anesthetic efficacy on palatal mucosa pretreated with microneedles**", dos autores **GABRIELA GAMA XAVIER AUGUSTO, STEPHANY DI CARLA SANTOS; NÁDIA CRISTINA FAVARO MOREIRA; NÁDIA CRISTINA FAVARO MOREIRA; HENRIQUE BALLASSIN ABDALLA; MARIA CRISTINA VOLPATO; FRANCISCO CARLOS GROPPPO ; HARVINDER SINGH GILL e MICHELLE FRANZ-MONTAN.**

Piracicaba, 24 de Maio de 2019



Profa. Dra. Vanessa Cavalli Gobbo
Presidente Docente
XXVI Jornada Odontológica de Piracicaba
XI Congresso Internacional de Odontologia



Giulia Antonieto da Silva
Presidente Discente
XXVI Jornada Odontológica de Piracicaba
XI Congresso Internacional de Odontologia