

AVALIAÇÃO DA ADESIVIDADE E CITOTOXICIDADE DE
MONÔMEROS FUNCIONAIS FOSFATADOS ACÍDICOS
EM RESINAS ORTODÔNTICAS AUTOADESIVAS

Daniella de Oliveira da Silva

DANIELLA DE OLIVEIRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ADESIVIDADE E CITOTOXICIDADE DE MONÔMEROS
FUNCIONAIS FOSFATADOS ACÍDICOS EM RESINAS ORTODÔNTICAS
AUTOADESIVAS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia da Universidade CEUMA
como requisito para obtenção do título
de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Ortodontia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Célia Regina
Maio Pinzan-Vercelino

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Viviane
Hass

SÃO LUÍS – MA

2019

S586a Silva, Daniella de Oliveira da.

Avaliação de adesividade e citotoxicidade de monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas./ Daniella de Oliveira da Silva. – São Luís: UNICEUMA, 2019.
67f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Odontologia. Universidade CEUMA, 2019.

1. Ortodontia. 2. Adesivos. 3. Monômeros funcionais. I. PINZAN-VERCELINO, Célia Regina Maio. (Orientadora) III. BANDECA, Matheus Coelho. (Coordenador) III. Título.

CDU: 616.314

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marina Carvalho CRB13/823
Proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio eletrônico ou mecânico, inclusive através de processos xerográficos, sem permissão expressa do Autor. (Artigo 184 do Código Penal Brasileiro, com a nova redação dada pela Lei n.8.635, de 16-03-1993).

Nome: Daniella de Oliveira da Silva

Título: Avaliação da Adesividade e Citotoxicidade de Monômeros
Funcionais Fosfatados Acídicos em Resinas Ortodônticas
Autoadesivas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Odontologia da Universidade CEUMA como requisito para obtenção
do título de Mestre.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Célia Regina Maio Pinzan-Vercelino

Instituição: Universidade Ceuma

Assinatura: _____

Prof. Dr. Darlon Martins Lima

Instituição: Universidade Federal do Maranhão

Assinatura: _____

Prof. Dr. Andres Felipe Millan Cardenas

Instituição: Universidade Ceuma

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

A minha família pelo apoio, confiança e paciência. Não existem palavras que possam descrever todo o respeito, admiração que tenho pelos meus pais. São os meus exemplos de força, determinação, superação e coragem. Tudo o que eu tenho e sou é por causa da luta de vocês para que eu pudesse ter a melhor educação possível, melhor vida possível. Meus irmãos, Rafaella e Rubens Junior, pelo companheirismo, apoio e incentivo. Os pequenos gestos, as frases de incentivo, as risadas foram essenciais.

Aos meus amigos pela amizade, apoio e sorrisos. Obrigada por estarem do meu lado mesmo quando estava muito ocupada, estressada ou sumida.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração pela oportunidade da concretização de um objetivo antigo.

A professora Viviane Hass pelo desenvolvimento desta pesquisa, pela disponibilidade, paciência, auxílio (até mesmo à distância, na reta final do mestrado). Foi muito engrandecedor seguir um trajeto no qual não imaginava no início mas que me encantou no transcorrer do caminho e que agora eu tenho certeza que foi o certo. Sempre serei grata. Muito obrigada por tudo.

A professora Célia pela confiança e disponibilidade em ter assumido a orientação desta pesquisa já no final do mestrado. Suas palavras de confiança em mim foram bastante motivadoras. Ao te olhar nas aulas eu sempre vi uma mulher forte, inteligente e determinada e isso é bastante inspirador.

Ao professor José Guilherme que ajudou bastante na fase laboratorial da pesquisa. A sua ajuda foi fundamental para a evolução desta pesquisa.

A minha turma de mestrado. O apoio e união foi fundamental para que a caminhada tenha sido mais leve e prazerosa.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, muito obrigada.

“Qualquer trabalho seria terrivelmente aborrecido se não jogássemos o jogo apaixonadamente”.

Simone de Beauvoir

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CT.....	Resina Experimental Autoadesiva Controle
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDAB.....	Etil-dimetilamino benzoato
GDMA-P.....	Glicerol-dimetacrilato-fosfato
IRA.....	Índice de Remanescente Adesivo
LED.....	<i>Light Emitting Diode</i>
MDP.....	10-metacrilóiloxi-decilo-dihidrogeno-fosfato
MPa.....	Megapascals
MTT.....	Bromídeo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5difeníl-tetrazolio
N.....	Newton
Nm.....	Nanômetro
PLUS.....	Transbond™ Plus Self Etching Primer
PVC.....	Policloreto de Vinila
RU.....	Resistencia de União
SFB	Soro fetal bovino
TCLE.....	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

XT..... Resina Ortodôntica Transbond™ XT

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1: Composição das Resinas e Modo de Aplicação.....	25
Tabela 2: Médias e Desvios padrões de RU.....	31
Figura 1: Valores de Degradação após Ciclagem.....	32
Tabela 3: IRA.....	33
Figura 2: Percentual IRA grupo Imediato.....	33
Figura 3: Percentual IRA grupo Ciclagem.....	34
Figura 4: Análise de Viabilidade Celular.....	35

SILVA, DO. Avaliação da adesividade e citotoxicidade de monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas [dissertação]. São Luís. Universidade CEUMA; 2019.

RESUMO

Objetivo: Investigar a inclusão de monômeros fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas na adesão de braquetes ao esmalte dental, bem como avaliar a citotoxicidade destes materiais. **Metodologia:** 150 pré-molares humanos foram aleatoriamente divididos em 10 grupos de acordo com os fatores: resina [duas resinas comerciais (Transbond XT e Transbond Plus Self Etching Primer) e três resinas autoadesivas experimentais (CT, MDP e GDMA-P)] e processo de envelhecimento (imediate e após termociclagem). Foram analisados a adesividade através de cisalhamento em uma máquina de teste universal e avaliação do padrão de falha através do Índice de Remanescente de Adesivo (IRA). A citotoxicidade foi analisada pelo método MTT. Para as comparações da resistência de união e citotoxicidade foi utilizada a ANOVA 2-fatores e 1-fator, respectivamente, seguida pelo post-hoc Teste de Tukey. O IRA foi analisado por Kruskal Wallis. **Resultados:** Houve diferença estatisticamente significativa na resistência de união entre as resinas. A maior média de resistência logo após a colagem foi obtido pelo grupo XT ($23,29 \pm 4,58$) seguido por PLUS ($16,21 \pm 4,80$), MDP ($8,81 \pm 2,37$), GDMA-P ($6,91 \pm 2,05$) e CT ($6,23 \pm 1,11$). Após termociclagem a maior resistência foi obtida

pelo grupo XT ($13,52 \pm 5,70$) seguido por PLUS ($10,81 \pm 3,72$), MDP ($8,11 \pm 1,22$), GDMA-P ($5,03 \pm 1,84$) e CT ($2,07 \pm 0,46$). MDP apresentou maior estabilidade nas taxas de adesividade após a colagem e depois da termociclagem. As resinas autoadesivas demonstraram melhor viabilidade celular comparadas às resinas comerciais. **Conclusão:** Devido aos resultados obtidos nos testes de adesividade e citotoxicidade da resina experimental com MDP, este material pode ser considerado uma alternativa viável para colagem de braquetes.

Descritores: adesivos, ortodontia, monômeros funcionais, resistência ao cisalhamento, citotoxicidade

SILVA, DO. Evaluation of the bonding and cytotoxicity of functional phosphated acid monomers in self-adhesive orthodontic [dissertation]. São Luís. Universidade CEUMA; 2019.

ABSTRACT

Objective: To investigate the inclusion of acidic phosphate monomers in self-adhesive orthodontic in the adhesion of brackets to dental enamel, as well as to evaluate the cytotoxicity of these materials. **Methods:** 150 human premolars were randomly divided into 10 groups according to the following factors: adhesive [two commercial adhesives (Transbond XT e Transbond Plus Self Etching Primer) and three experimental self-adhesives (CT, MDP and GDMA-P)] and aging process (immediate and thermocycling). Shear bond strength (SBS) was analyzed in a universal test machine and evaluation of failure pattern through Index Remanescant Adhesive (IRA). Cytotoxicity was analyzed by the MTT method. The data were analyzed statistically by 2-factor ANOVA in the adhesion test and 1-factor ANOVA for cytotoxicity. **Results:** There was a statistically significant difference in the bond strength between adhesives. The highest SBS at the immediate was obtained by the XT group ($23,29 \pm 4,58$) followed by PLUS ($16,21 \pm 4,80$), MDP ($8,81 \pm 2,37$), GDMA-P ($6,91 \pm 2,05$) and CT ($6,23 \pm 1,11$). After thermocycling the highest SBS was obtained by the XT group ($13,52 \pm 5,70$) followed by PLUS ($10,81 \pm 3,72$), MDP ($8,11 \pm 1,22$), GDMA-P ($5,03 \pm 1,84$) and CT ($2,07 \pm 0,46$). MDP presented greater stability in the SBS rates

between the immediate and after thermocycling. The self-adhesive obtained better cellular viability compared to commercial adhesives.

Conclusion: Due to the good results obtained in the adhesion and cytotoxicity tests of the MDP self-adhesive, this material can be considered a viable alternative for bonding.

Key words: adhesives, orthodontics, functional monomers, shear bond strength, cytotoxicity

SUMÁRIO

Resumo	17
1. Introdução	18
2. Metodologia	21
3. Resultados	30
4. Discussão	35
5. Conclusão	39
Referencias	41
Anexos	46
Anexo 1.....	47
Anexo 2.....	49
Anexo 3	53
Apêndice	66

CAPÍTULO 1

Título: Avaliação da adesividade e citotoxicidade entre dois monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas

RESUMO

Objetivo: Investigar a inclusão de monômeros fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas na adesão de braquetes ao esmalte dental, bem como avaliar a citotoxicidade destes materiais. **Metodologia:** 150 pré-molares humanos foram aleatoriamente divididos em 10 grupos de acordo com os seguintes fatores: resina [duas resinas comerciais (Transbond XT e Transbond Plus Self Etching Primer) e três resinas autoadesivas experimentais (CT, MDP e GDMA-P)] e processo de envelhecimento (imediate e após termociclagem). Foram analisados a adesividade através de cisalhamento em uma máquina de teste universal e avaliação do padrão de falha através do IRA. A citotoxicidade foi analisada pelo método MTT. Para as comparações da resistência de união e citotoxicidade foi utilizada a ANOVA 2-fatores e 1-fator, respectivamente, seguida pelo post-hoc Teste de Tukey. O IRA foi analisado por Kruskal Wallis. **Resultados:** Houve diferença estatisticamente significativa na resistência de união entre as resinas. A maior média de resistência logo após a colagem foi obtido pelo grupo XT ($23,29 \pm 4,58$) seguido por PLUS ($16,21 \pm 4,80$), MDP ($8,81 \pm 2,37$), GDMA-P ($6,91 \pm 2,05$) e

CT (6,23±1,11). Após termociclagem a maior resistência foi obtida pelo grupo XT (13,52±5,70) seguido por PLUS (10,81±3,72), MDP (8,11±1,22), GDMA-P (5,03±1,84) e CT (2,07±0,46). MDP apresentou maior estabilidade nas taxas de resistência após a colagem e depois da termociclagem. As resinas autoadesivas demonstraram melhor viabilidade celular comparadas às resinas comerciais. **Conclusão:** Devido aos resultados obtidos nos testes de adesividade e citotoxicidade da resina experimental com MDP, este material pode ser considerado uma alternativa viável para colagem de braquetes.

Descritores: adesivos, ortodontia, monômeros funcionais, resistência ao cisalhamento, citotoxicidade

1. INTRODUÇÃO

A introdução da técnica do condicionamento ácido em 1955, por Buonocore,¹ permitiu que a colagem direta dos aparelhos ortodônticos, preconizado por Newman,² tornasse uma realidade na Ortodontia. O método convencional para colagem sobre a superfície do esmalte requer a utilização de três agentes: condicionador ácido, solução de *primer* e resina adesiva.³

Mesmo sendo uma técnica amplamente conhecida e utilizada, ela é muito criteriosa e sensível, dependente da habilidade do

profissional, do controle de umidade e da evaporação do solvente. ⁴ Ainda que a literatura mostre eficiência comprovada dessa técnica na adesão de braquetes,⁵ alguns problemas como dificuldade de remoção e formação de fraturas ou trincas da superfície de esmalte durante a descolagem dos braquetes podem ocorrer, acometendo a integridade da superfície dentária.⁶

Na busca por materiais com melhor interação com o substrato dental, surgiram na Odontologia diferentes sistemas adesivos autocondicionantes que permitem associar eficiência e longevidade na adesão, e reduzir de forma significativa a sensibilidade técnica.^{7,8} Neste sistema as etapas são reduzidas já que é utilizado um *primer* autocondicionante (ácido fosfórico e *primer* no mesmo produto).

Mais recentemente os sistemas adesivos foram introduzidos e estes apresentam em sua composição diferentes tipos de monômeros funcionais acídicos, tais como o 10-MDP (10 metacriloxi decil-dihidrogeno fosfato) e o GDMA-P (1,3 glicerol dimetacrilato fosfato).⁹ O GDMA-P e o 10-MDP contém um radical fosfato em sua estrutura, e que interage quimicamente com o substrato dental devido à ionização e posterior ligação química do radical funcional fosfato do adesivo com o cálcio da superfície dental.⁸⁻¹² Dessa forma, estes monômeros promovem o “conceito de adesão química” ao substrato dental.

Além de adesivos dentinários, os monômeros funcionais acídicos também foram incluídos em materiais autoadesivos como

cimentos resinosos e resinas compostas do tipo *flow*, permitindo uma melhor adesividade não só na superfície dental mas também em outras superfícies como metal e cerâmica,¹³ reduzindo o número de etapas durante procedimentos restauradores diretos ou cimentação de materiais indiretos.

Esses materiais vêm sendo aplicados e demonstrando excelentes resultados na Odontologia Restauradora e na Prótese⁸⁻¹² porém o seu uso, até o momento, foi pouco estudado na Ortodontia. Isso seria significativamente relevante desde que inexistem resinas, completamente autoadesivas, próprias para colagem de braquetes.

Numa tentativa de introduzir materiais autoadesivos na Ortodontia, alguns pesquisadores testaram a resistência de união de braquetes ao esmalte dental utilizando cimentos resinosos autoadesivos oriundos da Odontologia Restauradora e da Prótese. Experimentos prévios¹⁵⁻¹⁸ compararam esses materiais autoadesivos com resinas ortodônticas comerciais. Apenas o estudo de Goracci *et al*⁶ obteve resultados satisfatórios em corpos de prova que foram testados imediatamente após a colagem, porém teve uma perda significativa de sua resistência após termociclagem. Portanto a diminuição dos valores de resistência de união de braquetes após degradação representa um desafio para materiais autoadesivos em Ortodontia.

Não apenas a resistência de união deve ser considerada na seleção do material adesivo, mas também a citotoxicidade do

produto, pois sabe-se que os componentes lixiviados de resinas podem causar danos em tecidos celulares.^{19,20} Então introduzir adesivos que tenham boa viabilidade celular é fundamental para evitar resultados adversos na resposta celular e permitir segurança nos procedimentos odontológicos.

Considerando os bons resultados na adesividade de materiais restauradores, bem como a falta de materiais totalmente autoadesivos em Ortodontia, investigar a inclusão de monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas seria de especial relevância. Dessa forma, esse estudo teve como objetivo avaliar a inclusão de diferentes monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas experimentais, na adesão de braquetes ao esmalte dental, além de analisar a citotoxicidade dessas resinas.

2. METODOLOGIA

O projeto desta pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da universidade local (protocolo # 2.522.293.) Para o estudo da adesividade das resinas, foram utilizados 150 pré-molares humanos hígidos extraídos obtidos por meio de concordância e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), de pacientes maiores de 18 anos.

Os critérios de inclusão foram: superfície vestibular intacta, ou seja, sem apresentar cáries, descalcificações, restaurações, trincas, fraturas e não ter recebido nenhum tipo de tratamento com agentes

químicos como, por exemplo, formol, peróxido de hidrogênio ou álcool.

Os dentes recém extraídos foram armazenados em solução de timol 0,2% num período de 7 dias para desinfecção e depois desse período eles ficaram armazenados em água destilada em temperatura de 37°C até a confecção dos corpos de prova.

Estes 150 dentes foram aleatorizados dentro de 10 grupos experimentais (n=15) de acordo com a combinação dos fatores: resinas ortodônticas (Transbond XT e Transbond Plus Self Etching Primer, CT, MDP e GDMA-P) e forma de degradação (imediate e após termociclagem). Os corpos de prova que estavam no grupo imediato, foram testados após 24 h de armazenamento em água destilada a 37°C após colagem. Já os do grupo após termociclagem foram testados após serem submetidos ao processo de 1000 ciclos.¹⁶

Foram avaliadas as seguintes resinas ortodônticas para colagem de braquetes ao esmalte dental:

1. Grupo XT: Transbond™ XT (3M Unitek, Monrovia, CA, EUA) controle comercial de sistema convencional de 3 passos com condicionador ácido fosfórico, *primer* e resina;
2. Grupo PLUS: Transbond™ Plus Self Etching Primer (3M Unitek, Monrovia, CA, EUA): controle comercial de sistema

autocondicionante de 2 passos com *primer* autocondicionante e resina;

3. Grupo CT: resina experimental autoadesiva sem monômeros funcionais acídicos (resina controle);

4. Grupo MDP: resina autoadesiva experimental contendo monômero funcional 10-MDP;

5. Grupo GDMA-P: resina autoadesiva experimental contendo monômero funcional GDMA-P.

A completa descrição de marca comercial, lote, composição e modo de aplicação estão descritos na Tabela 1.

Os dentes foram fixados em resina acrílica (VIPI Prod. Odontológicos, Pirassununga, SP, Brasil) em tubos de policloreto de vinila (PVC) com 25 mm de diâmetro e 20 mm de altura. A superfície vestibular de cada dente apresentava-se visível e paralela ao tubo de PVC. Para padronizar esse paralelismo foi utilizado um dispositivo de plástico com duas hastes que formavam um ângulo de 90°. Cada dente foi preso ao dispositivo de plástico com cera pegajosa (TechNew, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), mantendo a face vestibular paralela à superfície do mesmo, tendo a junção cimento-esmalte como limite inferior. Depois da fixação dos dentes no tubo de PVC, os mesmos foram limpos com pedra-pomes (S.S. White, Petrópolis, RJ, Brasil) e taça de borracha (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) por 20s.

Os braquetes, prescrição Roth, de pré-molares (Abzil 3M, São José do Rio Preto, SP, Brasil) foram posicionados no centro da coroa, com uma pressão padronizada em 300g durante a colagem, utilizando-se um dinamômetro (Correx, Haag-Streit, Bern, Suíça). Após o posicionamento e a remoção do excesso de resina, o braquete com a resina permaneceu em contato com a superfície do esmalte por 20s antes de ser fotopolimerizado com LED (1400 mW/cm², VALO®, Ultradent, South Jordan, UT, EUA) por 10s (5s por mesial e 5s por distal) de acordo com a instrução de uso do fabricante. Depois da colagem as amostras foram armazenadas por 24h em água destilada e estufa à 37°C.

Tabela 1. Resinas ortodônticas testadas, descrição de fabricantes, lote, composição e modo de aplicação*.

Resina Ortodôntica	Composição	Modo de Aplicação
<p>Transbond™ XT 3M Unitek, Monrovia, CA, EUA. Lote <i>primer</i>: N866912 Lote resina: 1800400306 (XT)</p>	<p>Condicionador ácido: Ácido fosfórico em gel a 37%.</p> <p><i>Primer</i>: Dimetacrilato trietilenoglicol, dimetacrilato de bisfenol A, diglicidil éter</p> <p>Resina: Quartzo de silano tratado, dimetacrilato de bisfenol-A diglicidil éter (BisGMA), dimetacrilato de bisfenol-A Bis (2-hidroxietil éter), sílica tratada de silano, difeniliodônio hexafluorofosfato</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Condicionamento do esmalte com ácido fosfórico por 15s; 2. Remoção do ácido com jato de água por 5s e secagem da superfície com jato de ar; 3. Aplicação do <i>primer</i> na superfície do esmalte e depois leve jato de ar; 4. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente 5. Remoção do excesso; 6. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².
<p>Transbond™ Plus Self Etching (PLUS) (Lote <i>primer</i> ácido: 71024B) (Lote resina: 1800400306)</p>	<p><i>Primer</i>: Mono e di-hema-fosfato, água, canforoquinona, amino benzoato, hexafluortitanato de potássio, butilhidroxitolueno, metilparabeno, propilparabeno</p> <p>Resina: Mesma Transbond™ XT</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Os componentes do <i>primer</i> foram misturados no reservatório e a solução foi esfregada na superfície do dente por 5s; depois leve jato de ar; 2. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente; 3. Remoção do excesso; 4. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².

<p>Resina Experimental Autoadesiva (CT)</p>	<p>80% BisGMA, Canforoquinona e 1% EDAB (amina coincidiadora). 20% TEGDMA, 0,5% (amina coincidiadora).</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hidratação da superfície do esmalte dental com <i>microbrush</i> umedecido em água, mantendo a superfície brilhante; 2. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente; 3. Remoção do excesso; 4. Resina em contato com a superfície por 20s; 5. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².
<p>Resina Experimental Autoadesiva com 10-MDP (MDP)</p>	<p>65% BisGMA, 15% TEGDMA, 20% de 10-MDP, 0,5% Canforoquinona e 1% EDAB (amina coincidiadora).</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hidratação da superfície do esmalte dental com <i>microbrush</i> umedecido em água, mantendo a superfície brilhante; 2. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente; 3. Remoção do excesso; 4. Resina em contato com a superfície por 20s; 5. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².

Resina Experimental
Autoadesiva com GDMA-P
(GDMA-P)

65% BisGMA, 15% TEGDMA, 20% de GDMA-P, 0,5% Canforoquinona e 1% EDAB (amina iniciadora).

1. Hidratação da superfície do esmalte dental com *microbrush* umedecido em água, mantendo a superfície brilhante.
2. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente
3. Remoção do excesso
4. Resina em contato da superfície por 20s
5. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².

-
- *Conforme recomendações do fabricante.*

BisGMA: dimetacrilato de bisfenol-A diglicidil éter; TEGDMA: trietileno glicol dimetacrilato, EDAB: etil-dimetilamino benzoato

Para a realização do processo de envelhecimento artificial foi utilizada a máquina termocicladora OMC 300 TS (Odeme Biotechnology, Joaçaba, SC, Brasil), com 1000 ciclos, nas temperaturas de 5°C, 37°C e 55°C.^{14,20} Cada imersão foi realizada por 30s, com intervalo de 10s entre os banhos.

Os corpos de prova foram posicionados em um dispositivo para cisalhamento e o teste realizado em uma máquina de ensaio universal Instron (Instron, Canton, MA, EUA) numa velocidade de 1mm/min^{14,15} com célula de carga de 50Kgf. Um cinzel de alumínio foi posicionado na parte superior do braquete, exercendo uma força em direção oclusogengival até a ruptura. A média da resistência de união (RU) foi calculada em MPa, sendo que foi obtida pela divisão da área do braquete (mm²) e a força até a ruptura (N). Os testes laboratoriais foram conduzidos de modo que o operador estava cego em relação ao material de colagem.

Após a realização dos testes de adesividade, cada corpo de prova foi analisado por um microscópio óptico com aumento de 20X (estereomicroscópio, *Opticam Microscopy Technology*, Doral, FL, EUA), e classificados de acordo com índice de remanescente adesivo (IRA). A escala utilizada foi a proposta por Artun & Bergland^{21,22} que varia de 0 a 3: Índice 0- nenhuma quantidade de adesivo aderido ao esmalte; 1- menos da metade do adesivo aderido ao esmalte; 2- mais da metade de adesivo aderido ao esmalte e 3-

todo o adesivo aderido ao esmalte dentário, inclusive a impressão da malha do braquete.

Para a análise da viabilidade celular das resinas foram confeccionados 5 discos de cada resina testada numa matriz circular metálica com as dimensões de 1 cm de diâmetro por 1,5 mm de altura. Os discos das resinas comerciais foram confeccionados de acordo com as instruções do fabricante (XT – *primer* específico mais a resina; PLUS – *primer* autocondicionante mais a resina). Os discos das resinas experimentais foram confeccionados colocando o material na matriz e posterior fotopolimerização. Todos os discos foram fotopolimerizados utilizando LED (1400 mW/cm², VALO®, Ultradent, South Jordan, UT, EUA) durante 40s.

Os corpos de prova foram esterilizados por radiação ultravioleta por 20 min. Depois estes discos foram armazenados em placas de cultura e adicionados ao meio de cultura de fibroblastos. Estes fibroblastos murinos de linhagem comercial NIH 3T3 (American Type Culture Collection - ATCC® CRL-1658TM) foram mantidos em estufa à 37°C e 5% CO₂ em atmosfera úmida, e cultivados em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco®) enriquecido com 10% de soro fetal bovino (SFB; Atlanta biologicals®), 100 U mL⁻¹ de penicilina, 100 µg mL⁻¹ de estreptomicina e 250 ng mL⁻¹ Fungizone (anfotericina B; Gibco®).²¹ O teste consistiu na inoculação das células (4x10⁴ células/mL) em

placa de 96 compartimentos. Os discos de resina foram armazenados por 24h em 200 μ L de meio DMEM contendo 5% SFB.

Enquanto isso, as células depois de 24h de incubação (37°C, atmosfera úmida, 5% de CO₂), teve todo o meio dos poços aspirado e então adicionado o meio que estava em contato com os discos de resina. Após isso, as placas foram novamente incubadas por 48h (37°C, atmosfera úmida, 5% de CO₂).

Ao final de 48h, todo meio foi aspirado, substituído por novo meio de cultura contendo DMEM/SFB acrescido de MTT (bromídeo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5difenil-tetrazolio 0,5%). As placas foram incubadas por 4 horas (37°C, atmosfera úmida, 5% de CO₂) e protegidas da luz. Depois desse período, o meio foi trocado por dimetilsulfóxido (DMSO) a 100% (100 μ L/poço) e a leitura espectrofotométrica foi realizada a 570 nm. A partir dos valores de absorvância obtidos foram calculadas as porcentagens de viabilidade celular. O cálculo considerou: % Viabilidade = TA / T1 x100 (onde: TA = média da absorvância da célula tratada – absorvância do branco da amostra; T1 = absorvância da suspensão celular sem tratamento). Foram gerados gráficos comparativos entre as concentrações testadas e as porcentagens de crescimento e viabilidade celulares.

Os dados (adesividade e citotoxicidade) foram analisados com o *software* do programa estatístico SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA). Todos os dados foram inicialmente avaliados em termos de normalidade e igualdade das variâncias pelos testes de

Komolgorov-Smirnov e Barlett respectivamente. Para as comparações da resistência de união e citotoxicidade foi utilizada a ANOVA a 2-fatores e a 1-fator, respectivamente, seguida pelo post-hoc Teste de Tukey. O IRA foi analisado por Kruskal Wallis. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$).

3 RESULTADOS

A análise de variância mostrou que houve diferença significativa entre as resinas ($p<0,0001$), tabela 2. Os resultados da resistência de união demonstraram que os maiores valores obtidos foram das marcas comerciais, tanto imediato quanto após termociclagem (tabela 2).

Tabela 2. Médias e desvios-padrões em Mpa, dos valores obtidos da resistência de união de braquetes ao esmalte dental por cisalhamento, para todos os grupos experimentais. *

	XT	PLUS	CT	MDP	GDMA-P
Imediato	23,29±4,58 A	16,21±4,80 B	6,23±1,11 E,F	8,81±2,37 D,E	6,91±2,05 D,E
Termo- ciclagem	13,52±5,70 B,C	10,81±3,72 C,D	2,07±0,46 F	8,11±1,22 D,E	5,03±1,84 E,F

**Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante. ANOVA 2-fatores e Teste de Tukey ($p<0,0001$).*

A figura 1 apresenta a taxa de degradação da resistência de união após a termociclagem num comparativo de todos os grupos analisados ($p< 0,05$). Observou-se baixa taxa de degradação obtida pelo grupo experimental MDP comparado com os demais grupos, inclusive os grupos comerciais.

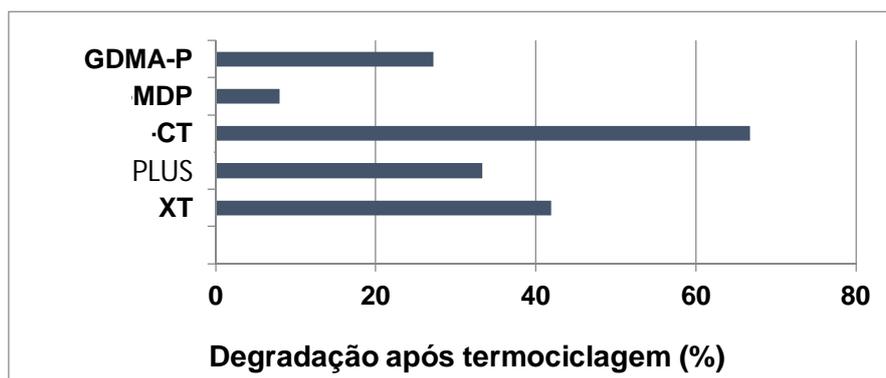


Figura 1. Valores correspondentes à porcentagem de degradação dos valores da resistência de união após termociclagem (1000 ciclos/5-37-55°C) para todos os grupos ($p < 0,05$).

A comparação entre os escores do IRA demonstrou maior incidência de escores 3 para os grupos experimentais contendo monômeros funcionais acídicos fosfatados (MDP e GDMA-P) indicando uma maior interação da resina com a superfície do esmalte, contudo essa diferença não foi estatisticamente significativa de acordo com o post-hoc Tukey ($p > 0,05$). No entanto, após ciclagem térmica houve uma diferença estatisticamente significativa nesses escores entre os grupos experimentais MDP e CT ($p < 0,05$), sendo que o grupo MDP apresentou mais de 50% das falhas com mais altos escores (2 e 3), tabela 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos MDP e GDMA-P, bem como entre os grupos XT e PLUS ($p > 0,05$), tabela 3.

Tabela 3: Descrição quantitativa do Índice de Remanescente Adesivo (IRA) para todos os grupos experimentais

IMEDIATO	ESCORES			
	0	1	2	3
XT	3	7	4	1
PLUS	6	4	3	2
CT	11	2	0	2

MDP	5	4	3	3
GDMA-P	7	1	3	4
TERMOCICLAGEM	ESCORES			
	0	1	2	3
XT	6	8	0	1
PLUS	6	6	1	2
CT	11	3	1	0
MDP	4	3	4	4
GDMA-P	8	3	4	0

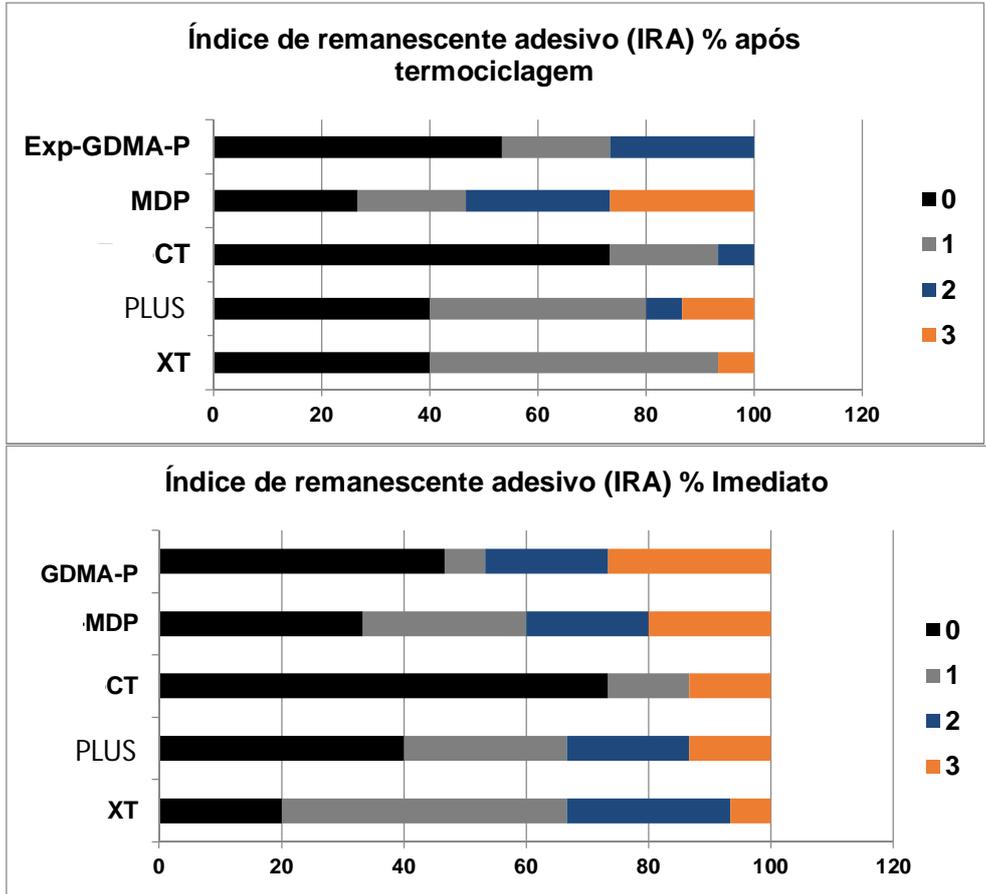


Figura 2: Índice de Remanescente Adesivo nos grupos Imediato e Termociclagem (percentual)

O teste de citotoxicidade demonstrou que todas as resinas ortodônticas testadas promoveram uma redução da viabilidade celular após 48h em relação ao grupo sem resina contendo apenas meio de cultura ($p < 0,0001$), figura 4. O grupo XT foi o que demonstrou maior redução da viabilidade celular ($p < 0,0001$), e não houve diferença entre ele e o grupo PLUS ($p > 0,05$). Os grupos de resinas experimentais (CT, MDP e GDMA-P) foram estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$) e apresentaram menor redução da viabilidade (menos citotóxicos) em comparação às resinas comerciais ($p < 0,0001$).

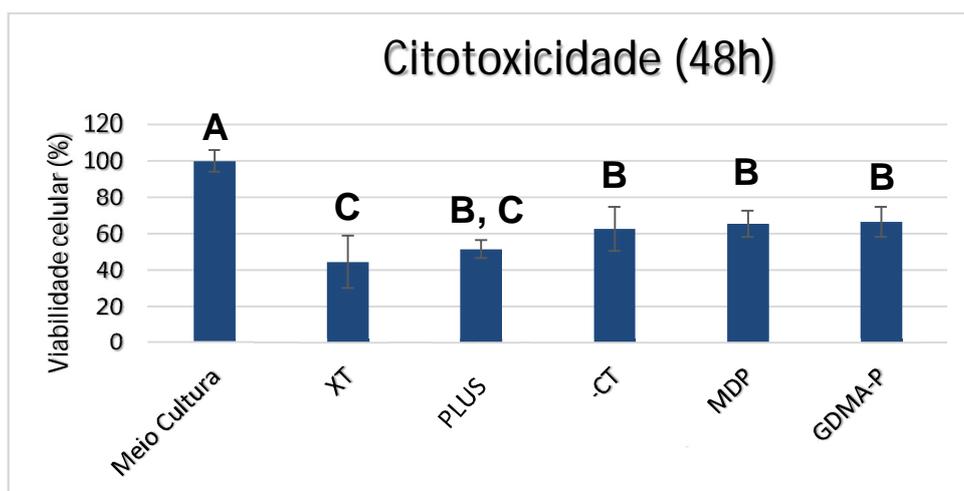


Figura 4: Análise de viabilidade celular das resinas ortodônticas

4 DISCUSSÃO

Na Odontologia existe uma busca constante por materiais inovadores que facilitem os procedimentos clínicos, que reduzam o tempo de cadeira e tragam um maior conforto e ótimos resultados aos pacientes. Entretanto, é fundamental a avaliação criteriosa de novos materiais afim de se determinar suas propriedades e

indicações. Em diferentes áreas da Odontologia, a inclusão de monômeros acídicos promoveu melhora da adesividade à superfície dental.^{9,12,26} Porém, na área da Ortodontia ainda há escassez de estudos que avaliem a possibilidade de apenas um único passo para a colagem ortodôntica, utilizando resina autoadesiva. Este estudo foi delineado na proposição de um material autoadesivo experimental para a colagem de braquetes.

Além de propor um material de passo único, este estudo indica a inclusão de monômeros acídicos na composição da resina experimental autoadesiva. Em diferentes áreas da Odontologia, a introdução de monômeros acídicos promoveu melhora da adesividade à superfície dental^{9,12,26} o que ainda não foi explorado na Ortodontia até o momento.

Foi comparado as resinas autoadesivas experimentais com resinas comerciais. As resinas comerciais XT e Plus obtiveram valores estatisticamente significantes maiores na resistência ao cisalhamento, corroborando com os resultados de estudos prévios que as compararam com materiais autoadesivos desenvolvidos para outras áreas odontológicas.^{16,17,20} Apesar dos valores inferiores em relação às resinas comerciais, a resistência ao cisalhamento da resina experimental contendo MDP, tanto após a colagem quanto após termociclagem, apresentou-se na média de resistência aceitável para uso clínico, que é de 6 a 8 MPa.²⁵

A superfície do esmalte dos dentes dos grupos das resinas experimentais foi umedecida previamente às colagens dos braquetes para que ocorresse a ionização do cálcio. Em materiais autocondicionantes e autoadesivos o substrato precisa estar úmido para que ocorra a ionização do cálcio e a adesão.^{7,8}

Para as resinas experimentais, o adesivo permaneceu em contato com o esmalte por 20s antes da fotopolimerização. Essa etapa pode ter sido um dos fatores diferenciais para que os resultados da resistência de união tenham sido melhores comparados com estudos prévios que utilizavam outros materiais autoadesivos oriundo de outras áreas da Odontologia.¹⁵⁻¹⁸

No estudo de Goracci *et al*¹⁶ foi utilizado uma resina flow autoadesiva e propunha esfregar a resina por 15-20s na superfície do esmalte antes de colar o braquete e obtiveram resultados aceitáveis quando os testes foram realizados logo após a colagem porem após a termociclagem teve uma queda significativa nesta adesividade. Nos demais^{15,17,18} os cimentos autoadesivos apenas foram aplicados na base do braquete, posicionado e fotopolimerizado e obtiveram resultados abaixo dos valores aceitáveis por Reynolds.²⁵

A comparação da taxa de degradação da resistência após a termociclagem demonstrou que o grupo MDP apresentou valores menores quando comparado aos outros grupos, o que demonstra uma melhor estabilidade dessa colagem depois do processo de

envelhecimento, demonstrando um potencial a ser explorado na área de biomateriais em Ortodontia, o que pode sugerir que a inclusão deste monômero funcional foi efetivo para sua melhor resistência e estabilidade nos valores após o processo de envelhecimento artificial dentre os grupos de resinas experimentais.

Este monômero funcional apresentou uma maior afinidade e interação ao esmalte dental e assim maior força de adesão dentre as resinas experimentais, e isso pode ser explicado devido a suas cadeias de carbono mais longas.^{12,26,27} Uma cadeia de carbono mais longa e mais hidrofóbica, como observada no monômero MDP, resulta em interação química mais intensa no processo de ionização do cálcio e conseqüentemente, maior força de adesão ao esmalte dental.^{26,27}

Em relação ao IRA observou-se um maior percentual de escores 0 e 1 na fase imediata e do escore 3, após a termociclagem. Quanto maior o escore maior a tendência de falha na interface resina/braquete, permanecendo o material de colagem aderido à superfície do esmalte. Esta condição é considerada vantajosa, uma vez que esta resina pode ser removida por instrumentos rotatórios adequados para remoção, de forma mais segura.²³

Ao mesmo tempo que é importante avaliar a adesividade das resinas, avaliar a citotoxicidade de adesivos ortodônticos é imprescindível já que este material permanece no meio bucal por um período de dois anos, em média, e pela proximidade com os tecidos

periodontais.²⁸ As resinas que apresentaram maior redução da viabilidade celular foram as resinas comerciais. Em estudos prévios que compararam a citotoxicidade entre resinas comerciais disponíveis no mercado demonstraram que a Transbond™ XT apresentou uma boa viabilidade celular.^{19,20,28} Neste estudo a resina experimental com GDMA-P apresentou uma viabilidade celular de \pm 66%, seguido pelo MDP com \pm 65%, CT com \pm 62%, PLUS com \pm 51% e por último o XT com \pm 44%. A pesquisa de Jagdish *et al*²⁰ avaliou resinas ortodônticas presentes no mercado e os valores obtidos pelo Transbond™ XT ficou entre o percentual de 60 a 40% apresentando valor similar a este estudo. Malkoc *et al*²⁸ também avaliou resinas já presentes no mercado e concluiu que todas as resinas estudadas são adequadas para aplicação clínica, mas que estudos adicionais usando diferentes métodos de teste são necessários para o Transbond™ XT já que esta foi que apresentou resposta citotóxica significativa.

A melhor viabilidade celular foi observada nas resinas experimentais. Uma possível explicação é a ausência de iodobenzeno e iodofenil na sua composição²⁹. Segundo Perloude *et al*²⁹ estas substancias, que estavam presentes na resina comercial Transbond™ XT, promovem o aumento de morte celular, e este pode indicar o motivo desta resina apresentar a menor viabilidade celular dentre as resinas analisadas no presente estudo. Esta melhor viabilidade celular das resinas experimentais em comparação as resinas comerciais utilizadas nesta pesquisa é uma grande

vantagem e algo que deve ser explorado em estudos futuros já que cada vez mais aumenta a busca por materiais que não tenham uma resposta celular citotóxica.^{19,20}

Os sistemas adesivos e cimentos resinosos que utilizam os monômeros acídicos já possuem a característica de não agredir tanto a superfície do esmalte, quando comparado com o sistema que precisa do uso do ácido fosfórico⁸ sendo um diferencial pois não desmineraliza desnecessariamente o esmalte dental. Novas pesquisas são necessárias para avaliar este parâmetro.

Diante destes resultados, seria pertinente a realização de estudos para avaliação de rugosidade superficial do esmalte dental além de estudos *in vivo* para melhor análise e comprovação da viabilidade do uso clínico além de melhor elucidar o mecanismo de adesão das resinas autoadesivas na superfície do esmalte dental.

5. CONCLUSÃO

As resinas ortodônticas comerciais apresentaram melhor resistência de união do que as autoadesivas experimentais, entretanto a resina autoadesiva contendo o monômero funcional MDP obteve valores aceitáveis de adesividade além disso esta resina autoadesiva apresentou menor taxa de degradação após ser termociclado.

A viabilidade celular das resinas experimentais foram melhores ao ser comparadas com as resinas comerciais utilizadas neste estudo.

REFERÊNCIAS

1. Buonocore M. A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *J Dent Res.* 1955;34(6):849-853.
2. Newman G. Epoxy adhesives for orthodontic attachments: Progress report. *Am J Orthod.* 1965;51(12):901-912.
3. Carstensen, W. The effects of different phosphoric acid concentrations on surface enamel. *The Angle Orthodontist* 1992;62(1): 51-58.
4. Hosein I, Sherriff M, Ireland A. Enamelloss during bonding, debonding, and cleanup with use of a self-etching primer. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2004;126(6):717-724.
5. Fleming P, Johal A, Pandis N. Self-etch primers and conventional acid-etch technique for orthodontic bonding: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2012;142(1):83-94.
6. Visel D, Jäcker T, Jost-Brinkmann P, Präger T. Demineralization adjacent to orthodontic brackets after application of conventional and self-etching primer systems. *Journal of Orofacial Orthopedics / Fortschritte der Kieferorthopädie.* 2014;75(5):358-373.
7. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Vanherle G. "Adhesion to enamel and dentin: current

- status and future challenges." *Operative Dentistry-University of Washington*- 2003;28(3):215-235.
8. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, J. D, K.L. V. State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials*. 2011;27(1):17-28.
 9. Albuquerque P, Rodrigues E, Schneider L, Moraes R, Cesar P, Rodrigues Filho L. Effect of an acidic sodium salt on the polymerization behavior of self-adhesive resin cements formulated with different adhesive monomers. *Dental Materials*. 2018;34(9):1359-1366.
 10. Jang Y, Ferracane J, Pfeifer C, Park J, Shin Y, Roh B. Effect of Insufficient Light Exposure on Polymerization Kinetics of Conventional and Self-adhesive Dual-cure Resin Cements. *Oper Dent*. 2017;42(1):E1-E9.
 11. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y et al. Adhesion to and Decalcification of Hydroxyapatite by Carboxylic Acids. *J Dent Res*. 2001;80(6):1565-1569.
 12. Feitosa V, Ogliari F, Van Meerbeek B et al. Can the Hydrophilicity of Functional Monomers Affect Chemical Interaction?. *J Dent Res*. 2013;93(2):201-206.
 13. Hellak A, Rusdea P, Schauseil M, Stein S, Korbmacher-Steiner H. Enamel shear bond strength of two orthodontic self-etching bonding systems compared to Transbond™ XT. *Journal of Orofacial Orthopedics / Fortschritte der Kieferorthopädie*. 2016;77(6):391-399.

14. Weiser F, Behr M. Self-Adhesive Resin Cements: A Clinical Review. *Journal of Prosthodontics*. 2014;24(2):100-108.
15. Vicente A, Bravo LA, Romero M, José Ortiz A, Canteras M. A comparison of the shear bond strength of a resin cement and two orthodontic resin adhesive systems. *The Angle Orthodontist* 2005;75(1):109-113.
16. Goracci C, Margvelashvili M, Giovannetti A, Vichi A, Ferrari M. Shear bond strength of orthodontic brackets bonded with a new self-adhering flowable resin composite. *Clin Oral Investig*. 2012;17(2):609-617.
17. Al-Saleh M, El-Mowafy O. Bond strength of orthodontic brackets with new self-adhesive resin cements. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2010;137(4):528-533.
18. Bishara SE, Ostby AW, Ajlouni R, Laffoon JF, Warren J J. Early shear bond strength of a one-step self-adhesive on orthodontic brackets. *The Angle Orthodontist* 2006;76(4):689-693.
19. Jonke E, Franz A, Freudenthaler J, König F, Bantleon H, Schedle A. Cytotoxicity and shear bond strength of four orthodontic adhesive systems. *The European Journal of Orthodontics*. 2008;30(5):495-502.
20. Jagdish N, Padmanabhan S, Chitharanjan A et al. Cytotoxicity and Degree of Conversion of Orthodontic Adhesives. *Angle Orthod*. 2009;79(6):1133-1138.

21. Jorge M, Madjarof C, Ruiz A et al. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. *Journal of Ethnopharmacol.* 2008;118(3):361-366.
22. Gale M, Darvell B. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent.* 1999;27(2):89-99.
23. Årtun J, Bergland S. Clinical trials with crystal growth conditioning as an alternative to acid-etch enamel pretreatment. *Am J Orthod.* 1984;85(4):333-340.
24. Montasser M, Drummond J. Reliability of the Adhesive Remnant Index Score System with Different Magnifications. *Angle Orthod.* 2009;79(4):773-776.
25. Reynolds I. A Review of Direct Orthodontic Bonding. *Br J Orthod.* 1975;2(3):171-178.
26. Hass V, Abuna G, Pinheiro F V, Martini EC, Sinhoreti MA, Furtado CR, Loguercio AD. Self-Etching Enamel Bonding Using Acidic Functional Monomers with Different-length Carbon Chains and Hydrophilicity. *The journal of adhesive dentistry*, 2017;19(6): 497-505.
27. Van Landuyt, K. L., Yoshida, Y., Hirata, I., Snauwaert, J., De Munck, J., Okazaki, M., & Van Meerbeek, B. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *Journal of dental research*, 2008; 87(8), 757-761.
28. Malkoc, S., Corekci, B., Ulker, H. E., Yalçın, M., & Şengün, A. Cytotoxic effects of orthodontic composites. *The Angle orthodontist*, 2010; 80(4), 759-764.

29. Pelourde, C., Bationo, R., Boileau, M. J., Colat-Parros, J., & Jordana, F. Monomer release from orthodontic retentions: An in vitro study. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 2018; 153(2), 248-254.

ANEXOS

Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO
MARANHÃO - UNICEUMA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: O uso de diferentes monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas

Pesquisador: Viviane Hass

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 81635417.3.0000.5084

Instituição Proponente: Centro Universitário do Maranhão - UNICEUMA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.522.293

Apresentação do Projeto:

A ortodontia está em constante evolução e estudo desde a introdução da técnica da colagem de braquetes na superfície do esmalte. Então qualquer nova técnica ou material que diminua o tempo de cadeira, diminua os custos e que também diminua a degradação da superfície do esmalte dentário será de grande interesse e motivo de estudo na ortodontia. Por isso há uma crescente em estudos envolvendo adesivos autocondicionantes e autoadesivos. A inclusão de monômeros fosfatados acídicos são bastante estudando nas áreas da Odontologia Restauradora e na Prótese porém quase nada estudado na Ortodontia.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar o efeito de diferentes monômeros funcionais acídicos fosfatados, adicionados em adesivos ortodônticos, na adesão de braquetes ao esmalte dental

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Em se tratando de um estudo laboratorial, os riscos seriam oriundos das etapas laboratoriais durante manipulação dos dentes e confecção dos espécimes. No entanto, medidas como a utilização de equipamentos de proteção individual como gorro, máscara, luvas e óculos são importantes e serão utilizadas em todas as etapas.

Benefícios: Como benefício este estudo pretende avaliar a uma alternativa viável para um novo

Endereço: DOS CASTANHEIROS

Bairro: JARDIM RENASCENÇA

UF: MA Município: SAO LUIS

Telefone: (98)3214-4212

CEP: 65.075-120

E-mail: cep@ceuma.br



Continuação do Parecer: 2.522.293

produto para colagem de braquetes de apenas um único passo e que não sofra ação da saliva, facilitando a colagem e diminuindo o tempo de cadeira além de custos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta relevância científica, e contribuirá para a área de estudo. Tem metodologia delineada adequadamente e que irá responder aos objetivos propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os termos necessários para apreciação ética da pesquisa, estando estruturados de acordo com a resolução 466/12 CNS

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

O PESQUISADOR DEVERÁ APRESENTAR RELATÓRIO FINAL DA PESQUISA

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_973044.pdf	01/12/2017 16:33:45		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCompleto.docx	01/12/2017 16:27:44	Viviane Hass	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	01/12/2017 16:27:24	Viviane Hass	Aceito
Declaração de Pesquisadores	AnuenciPesquisadores.pdf	01/12/2017 16:27:04	Viviane Hass	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnuenciInstituicao.pdf	01/12/2017 16:25:54	Viviane Hass	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	01/12/2017 16:12:57	Viviane Hass	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	01/12/2017 16:10:58	Viviane Hass	Aceito

Endereço: DOS CASTANHEIROS
Bairro: JARDIM RENASCENÇA CEP: 65.075-120
UF: MA Município: SAO LUIS

ANEXO 2 – NORMAS DA REVISTA: THE ANGLE ORTHODONTIST

Informações para colaboradores

O Angle Orthodontist é a publicação oficial da Edward H Angle Society of Orthodontists. A Fundação de Educação e Pesquisa EH Angle, Inc., detém os direitos autorais de todos os materiais publicados na revista. Como um periódico de acesso aberto, não cobramos leitores ou suas instituições pelo acesso. A Fundação convida os usuários a ler, baixar, copiar, distribuir, imprimir, pesquisar ou vincular os artigos publicados no The Angle Orthodontist, desde que todo o uso seja para fins não comerciais e a devida atribuição seja feita à fonte como sendo "The Angle". Ortodontista".

Por favor, esteja ciente de que o *Angle Orthodontist* participa da iniciativa CrossCheck™ e que todas as submissões estão sujeitas a triagem com o software iThenticate para detectar o plágio.

Por favor, organize e insira o seu manuscrito do Artigo Original usando os seguintes títulos (Relatos de casos e outros tipos de artigos podem variar):

CARTA DE CAPA - Deve conter o seguinte:
Lançamentos de Direitos Autorais - A seguinte declaração escrita, assinada por um dos autores e atuando em nome de todos os autores, deve acompanhar todos os manuscritos:

"O autor abaixo assinado transfere toda a propriedade dos direitos autorais do manuscrito (preencha o título do seu manuscrito) para o *The Angle Orthodontist* no caso do trabalho ser publicado. O autor abaixo assinado garante que o artigo é original, não está sob consideração para publicação por outro autor. revista e não foi publicado anteriormente. Eu assino e aceito a responsabilidade por liberar este material em nome de *todos* e quaisquer co-autores. "

As citações, tabelas ou imagens diretas que aparecerem em outro lugar em material com direitos autorais devem ser acompanhadas por uma autorização assinada pelo proprietário dos direitos autorais. Informações completas que identificam a origem do material são necessárias.

Liberações Pacientes - Uma liberação assinada deve ser obtida para todas as imagens que contenham pacientes identificáveis ou sujeitos humanos. Essas liberações devem ser retidas indefinidamente pelo Autor Correspondente. Uma carta de apresentação deve ser submetida com o manuscrito atestando o fato de que todas as liberações de pacientes aplicáveis foram obtidas e estão em arquivo com o Autor Correspondente.

Cada declaração de liberação deve estar em uma página separada, incluir o título do manuscrito, todos os nomes dos autores e conter uma cópia da seguinte declaração assinada pelo paciente:

"Eu concedo todos os direitos de publicar fotografias ou outras imagens minhas no manuscrito acima, onde eu apareci como um paciente ou sujeito sem nenhum tipo de pagamento. Fui informado de que quaisquer imagens minhas que apareçam podem ser modificadas".

- **ARQUIVO ARQUIVO**

Os artigos devem ser originais e escritos em inglês claro. O arquivo total do artigo deve ser inserido como um documento e deve conter o título, resumo, referências de texto e legendas de figuras. O arquivo do artigo não deve exceder um máximo de 3500 palavras. Para determinar o número de palavras em seu documento, vá para a barra de ferramentas, clique em ferramentas e, em seguida, clique em contagem de palavras.

Para Revisões Sistemáticas, use a declaração PRISMA para uniformidade no formato de relatório :(<http://www.prisma-statement.org/2.1.2%20-%20PRISMA%202009%20Checklist.pdf>). Siga a estrutura e os subtítulos propostos sempre que possível. O arquivo de artigo para revisões sistemáticas não deve exceder um máximo de 4000 palavras.

Para Cartas ao Editor, o arquivo do artigo não deve exceder um máximo de 250 palavras.

Por favor, digite apenas os seguintes itens no arquivo de artigo:

- **Título** do manuscrito
- **Resumo** - *O Angle Orthodontist* utiliza um resumo estruturado que deve ser limitado a 250 palavras. O resumo deve obedecer ao seguinte esboço e não conter uma introdução, revisão de literatura ou discussão.

RESUMO

Objetivo: Listar o (s) objetivo (s) específico (s) da pesquisa.

Materiais e Métodos: Descreva brevemente os procedimentos que você usou para realizar este trabalho. Deixe os pequenos detalhes para o próprio manuscrito.

Resultados: Identifique os resultados que foram encontrados como resultado deste estudo.

Conclusão: Listar as conclusões específicas que podem ser tiradas com base nos resultados deste estudo.

- **Texto manuscrito** - Por favor remova todas as referências à identidade ou instituições do autor, pois os manuscritos são revisados por pares anonimamente. Um texto do artigo original conterà o seguinte na ordem:

INTRODUÇÃO - Esta seção estabelece o objetivo da pesquisa e inclui um breve resumo da literatura descrevendo o estado atual do campo.

MATERIAIS E MÉTODOS - Esta seção indica exatamente o que foi feito e deve permitir ao leitor replicar o trabalho. Materiais ou métodos descritos em outras partes da literatura podem ser referenciados sem repetir esses detalhes. Identifique os dentes usando o nome completo do dente ou a anotação do FDI. Se sujeitos humanos ou animais estiverem envolvidos no trabalho, esta seção deve conter uma declaração de que os direitos dos indivíduos humanos ou animais foram protegidos e a aprovação foi obtida de uma junta de revisão institucional identificada, ou seu equivalente.

RESULTADOS - Esta seção deve descrever as conclusões objetivas sem qualquer comentário sobre sua importância ou importância relativa. Cite todas as tabelas e figuras em ordem seqüencial no texto.

DISCUSSÃO - Somente esta seção permite a liberdade de interpretar seus dados e dar sua opinião sobre o valor de suas descobertas em relação ao trabalho anterior. Todas as opiniões devem estar limitadas a esta seção.

CONCLUSÃO - Esta seção indica quais conclusões podem ser extraídas especificamente da pesquisa relatada. Pontos de bala são preferidos. Não repita material de outras seções.

REFERÊNCIAS - As referências citadas devem referir-se ao material publicado. Numere referências consecutivamente em ordem de sua aparição no manuscrito usando sobrescritos e números arábicos. Referências a "comunicação pessoal" ou teses não publicadas não são aceitáveis. O estilo e a pontuação das referências devem obedecer rigorosamente ao *Manual de Estilo da American Medical Association: Guia para Autores e Editores*, 9ª ed (Baltimore, Md: Williams & Wilkins; 1998). Consulte as edições anteriores do The Angle Orthodontist para obter orientação (disponível em <http://www.angle.org>).

LEGENDAS DAS FIGURAS - Todas as figuras devem ser numeradas sequencialmente no manuscrito e uma legenda para cada figura deve aparecer nesta seção.

- **ARQUIVOS DE TABELA**

Cada tabela deve estar no formato WORD ou EXCEL e ser inserida como um arquivo separado. Cada tabela deve ter sua própria legenda, numerada com algarismos arábicos e referenciada sequencialmente no texto. Todas as abreviaturas usadas na tabela devem ser definidas em uma nota de rodapé. Use * $P = 0,05$; ** $P = 0,01$; *** $P = 0,001$; **** $P = 0,0001$, conforme necessário. As tabelas não podem estar em formatos ilustrados ou de imagem. Formatos pictóricos ou de imagem são figuras e devem ser inseridos como figuras.

- **ARQUIVOS DE FIGURA**

Cada figura deve ter resolução suficiente para publicação de alta qualidade, geralmente em formato TIFF ou EPS. Todas as imagens precisam estar em 300 DPI quando a figura é do tamanho a ser usado na publicação.

Se você inserir uma imagem grande em 300 DPI e reduzi-la a um tamanho muito menor para publicação, isso aumentará o DPI e a imagem ficará muito pesada e lenta para abrir eletronicamente. Se você inserir uma imagem pequena (como uma foto de 35 mm) e planejar ampliá-la para publicação, ela precisará ser inserida em mais de 300 DPI, já que a ampliação só reduzirá a resolução.

Figuras no software WORD ou de apresentação, como PowerPoint, Corel Draw ou Harvard Graphics, não contêm resolução suficiente para publicação e não serão aceitas. Os autores serão cobrados pela publicação de figuras em cores.

- **AGRADECIMENTOS**

Se esta pesquisa foi financiada ou apoiada por uma empresa comercial ou por outras entidades externas, forneça seu nome e localização. Se um autor (s) recebe financiamento ou apoio de uma empresa comercial ou outra entidade externa relacionada a esta pesquisa, também deve ser revelado aqui.

Revisão do manuscrito

Depois de ter inserido o seu manuscrito, você receberá respostas automatizadas do sistema à medida que o manuscrito é processado. Você também pode acompanhar o progresso do seu manuscrito através do site e sua própria senha que você criou quando entrou no sistema pela primeira vez.

Seu manuscrito será revisado por pares e os comentários dos revisores serão enviados a você. Por favor, aguarde o tempo adequado para este processo. Nosso sistema automatizado é instantâneo, mas os revisores são pessoas ocupadas que doam seu conhecimento e tempo.

Um manuscrito devolvido a um autor com revisões sugeridas deve ser devolvido dentro de 3 meses. Manuscritos revisados retornados após este período serão considerados novos envios.

Após a conclusão das revisões, o editor apresentará o manuscrito à impressora e uma cópia eletrônica da prova da sua galera será enviada a você para correções e aprovação final. Espere que os números na prova da galera sejam de baixa resolução para facilitar a transmissão. A publicação final conterá seus números de alta qualidade.

Reimpressões

O Angle Orthodontist não fornece o serviço de reimpressão de um editor. Todos os artigos continuam sendo propriedade da EH Angle Education and Research Foundation. Para propósitos educacionais não comerciais, os autores podem imprimir um número ilimitado de cópias de um artigo e reproduzir qualquer texto, figuras ou tabelas para republicação, desde que citem a fonte como The Angle Orthodontist. Para uso comercial, os autores devem entrar em contato com o Copyright Clearance Center (www.copyright.com) para pagar a taxa apropriada para reimprimir cópias ou usar qualquer parte do texto, figuras ou tabelas de qualquer material publicado.

Informações

A Fundação de Educação e Pesquisa EH Angle convida manuscritos sobre o complexo dentário e craniofacial. Pesquisa original, observações clínicas e artigos de revisão, bem como editoriais convidados, cartas ao editor e relatos de caso são bem-vindos.

Gerais

O Angle Orthodontist é apoiado pela Fundação de Educação e Pesquisa EH Angle e não cobra taxas de processamento ou de submissão.

Os artigos são revisados por meio de um processo duplo-cego e estão sujeitos à revisão editorial. Declarações e opiniões expressas em artigos não são necessariamente as do editor ou editor. O editor e o editor se isentam de qualquer responsabilidade ou responsabilidade por tal material.

O *Angle Orthodontist* está agora ONLINE para todas as submissões e revisões dos manuscritos. Por favor, vá para a Internet: <http://angle.allentrack.net/> e siga as instruções fáceis para a submissão do manuscrito. Se você tiver dúvidas sobre a submissão do seu manuscrito, por favor envie essas perguntas para < 1drwoman54@sbcglobal.net >.

ANEXO 3: METODOLOGIA DETALHADA

2. METODOLOGIA

2.1 ASPECTOS ÉTICOS E SELEÇÃO DOS DENTES

O projeto desta pesquisa foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da universidade local (# 2.522.293.) Para o estudo da resistência de união das resinas, foram utilizados 150 pré-molares humanos hígidos extraídos obtidos por meio de concordância e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), de pacientes maiores de 18 anos.

Os critérios de inclusão foram: superfície vestibular intacta, ou seja, sem apresentar cáries, descalcificações, restaurações, trincas, fraturas e não ter recebido nenhum tipo de tratamento com agentes químicos como, por exemplo, formol, peróxido de hidrogênio ou álcool. Os dentes recém extraídos foram armazenados em solução de timol 0,2% num período de 7 dias para desinfecção e depois desse período eles ficaram armazenados em água destilada em temperatura de 37°C até a confecção dos corpos de prova.

2.2 ALEATORIZAÇÃO E GRUPOS EXPERIMENTAIS

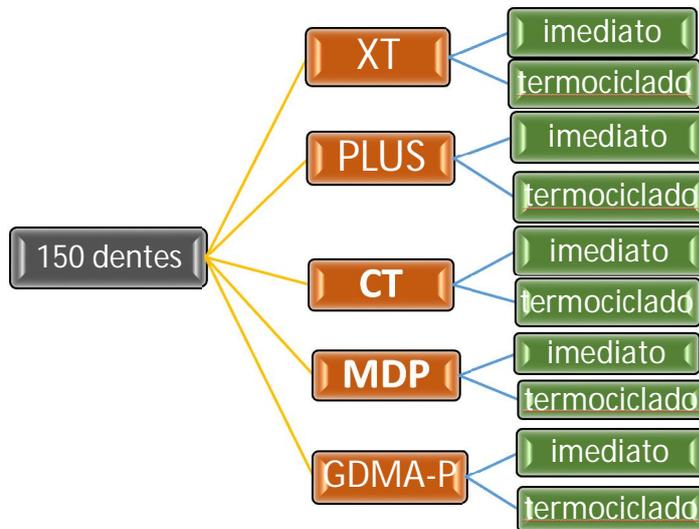
Os 150 dentes foram aleatorizados dentro de 10 grupos experimentais (n=15) de acordo com a combinação dos fatores: resinas ortodônticas (XT, PLUS, CT, MDP e GDMA-P) e forma de degradação (imediate e termociclagem). Os corpos de prova que

estavam no grupo imediato, foram testados após 24 h de armazenamento em água destilada a 37°C após colagem. Já os do grupo termociclagem foram testados após serem submetidos a termociclagem de 1000 ciclos.

Foram avaliadas as seguintes resinas ortodônticas para colagem de braquetes ao esmalte dental:

1. Grupo XT: Transbond™ XT (3M Unitek, Monrovia, CA, EUA) controle comercial de sistema convencional de 3 passos com condicionador ácido fosfórico, *primer* e resina;
2. Grupo PLUS: Transbond™ Plus Self Etching Primer (3M Unitek, Monrovia, CA, EUA): controle comercial de sistema autocondicionante de 2 passos com *primer* autocondicionante e resina;
3. Grupo CT: resina experimental autoadesiva sem monômeros funcionais (resina controle);
4. Grupo MDP: resina autoadesiva experimental contendo monômero funcional 10-MDP;
5. Grupo GDMA-P: resina autoadesiva experimental contendo monômero funcional GDMA-P.

A completa descrição de marca comercial, lote, composição e modo de aplicação estão descritos na Tabela 1 e a disposição do grupos está descrito no fluxograma.



Fluxograma: Distribuição dos grupos

2.3 CONFEÇÃO DOS CORPOS DE PROVA, PROCEDIMENTO ADESIVO E COLAGEM DOS BRAQUETES

Os dentes foram fixados em resina acrílica (VIPI Prod. Odontológicos, Pirassununga, SP, Brasil) em tubos de policloreto de vinila (PVC) com 25 mm de diâmetro e 20 mm de altura. A superfície vestibular de cada dente apresentava-se visível e paralela ao tubo de PVC. Para padronizar esse paralelismo foi utilizado um dispositivo de plástico com duas hastes que formavam um ângulo de 90°. Cada dente foi preso ao dispositivo de plástico com cera pegajosa (TechNew, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), mantendo a face vestibular paralela à superfície do mesmo, tendo a junção cimento-esmalte como limite inferior. Depois da fixação dos dentes no tubo de PVC, os mesmos foram limpos com pedra-pomes (S.S. White,

Petrópolis, RJ, Brasil) e taça de borracha (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) por 20s.

As resinas dos grupos XT e PLUS foram aplicadas de acordo com as recomendações do fabricante (tabela 1). As resinas experimentais foram aplicadas inicialmente na superfície dos braquetes (Abzil 3M, São José do Rio Preto, SP, Brasil) e estes posicionados na superfície vestibular do dente que foi previamente umedecida com água utilizando-se *microbrush* (Cavibrush, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil). Os braquetes foram posicionados no centro da coroa, com uma pressão padronizada em 300g durante a colagem, em todos os dentes, por meio de um dinamômetro (Correx, Haag-Streit, Bern, Suíça). Posterior posicionamento e remoção do excesso de resina, o braquete com a resina permaneceu em contato com a superfície do esmalte por 20s antes de ser fotopolimerizado com LED (1400 mW/cm², VALO®, Ultradent, South Jordan, UT, EUA) por 10s (5s por mesial e 5s por distal) de acordo com a instrução de uso do fabricante. Depois da colagem as amostras foram armazenadas por 24h em água destilada e estufa a 37°C

Tabela 1. Resinas ortodônticas testadas, descrição de fabricantes, lote, composição e modo de aplicação*.

Resina Ortodôntica	Composição	Modo de Aplicação
<p>Transbond™ XT 3M Unitek, Monrovia, CA, EUA. Lote <i>primer</i>: N866912 Lote resina: 1800400306 (XT)</p>	<p>Condicionador ácido: Ácido fosfórico em gel a 37%.</p> <p><i>Primer</i>: Dimetacrilato trietilenoglicol, dimetacrilato de bisfenol A, diglicidil éter</p> <p>Resina: Quartzo de silano tratado, dimetacrilato de bisfenol-A diglicidil éter (BisGMA), dimetacrilato de bisfenol-A Bis (2-hidroxietil éter), sílica tratada de silano, difeniliodônio hexafluorofosfato</p>	<p>7. Condicionamento do esmalte com ácido fosfórico por 15s;</p> <p>8. Remoção do ácido com jato de água por 5s e secagem da superfície com jato de ar;</p> <p>9. Aplicação do <i>primer</i> na superfície do esmalte e depois leve jato de ar;</p> <p>10. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente</p> <p>11. Remoção do excesso;</p> <p>12. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².</p>
<p>Transbond™ Plus Self Etching (PLUS) (Lote <i>primer</i> ácido: 71024B) (Lote resina: 1800400306)</p>	<p><i>Primer</i>: Mono e di-hema-fosfato, água, canforoquinona, amino benzoato, hexafluortitanato de potássio, butilhidroxitolueno, metilparabeno, propilparabeno</p> <p>Resina: Mesma Transbond™ XT</p>	<p>5. Os componentes do <i>primer</i> foram misturados no reservatório e a solução foi esfregada na superfície do dente por 3-5s; depois leve jato de ar;</p> <p>6. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente;</p> <p>7. Remoção do excesso;</p> <p>8. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².</p>

<p>Resina Experimental Autoadesiva (CT)</p>	<p>80% BisGMA, Canforoquinona e 1% EDAB (amina coincidiadora). 20% TEGDMA, 0,5% (amina coincidiadora).</p>	<ol style="list-style-type: none"> 6. Hidratação da superfície do esmalte dental com <i>microbrush</i> umedecido em água, mantendo a superfície brilhante; 7. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente; 8. Remoção do excesso; 9. Resina em contato com a superfície por 20s; 10. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².
<p>Resina Experimental Autoadesiva com 10-MDP (MDP)</p>	<p>65% BisGMA, 15% TEGDMA, 20% de 10-MDP, 0,5% Canforoquinona e 1% EDAB (amina coincidiadora).</p>	<ol style="list-style-type: none"> 6. Hidratação da superfície do esmalte dental com <i>microbrush</i> umedecido em água, mantendo a superfície brilhante; 7. Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente; 8. Remoção do excesso; 9. Resina em contato com a superfície por 20s; 10. Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².

Resina Experimental
Autoadesiva com GDMA-P
(GDMA-P)

65% BisGMA, 15% TEGDMA, 20% de GDMA-P, 0,5% Canforoquinona e 1% EDAB (amina coiniadora).

6. **Hidratação da superfície do esmalte dental com *microbrush* umedecido em água, mantendo a superfície brilhante.**
7. **Aplicação da resina na base do braquete e posicionamento no dente**
8. **Remoção do excesso**
9. **Resina em contato da superfície por 20s**
10. **Fotopolimerização por 10s a 1400 mW/cm².**

-
- *Conforme recomendações do fabricante.*

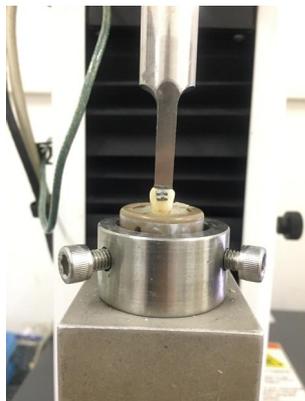
BisGMA: dimetacrilato de bisfenol-A diglicidil éter; TEGDMA: trietileno glicol dimetacrilato, EDAB: etil-dimetilamino benzoato

2.4 TERMOCICLAGEM DOS CORPOS DE PROVA

Para a realização do processo de envelhecimento, foi utilizada a máquina termocicladora OMC 300 TS (Odeme Biotechnology, Joaçaba, SC, Brasil), com 1000 ciclos, nas temperaturas de 5°C, 37°C e 55°C.^{14,20} Cada imersão foi realizado por 30s, com intervalo de 10s entre os banhos.

2.5 ANÁLISE DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO (RU) POR TESTE DE CISALHAMENTO

Os corpos de prova foram posicionados em um dispositivo para cisalhamento e o teste realizado em uma máquina de ensaio universal Instron (Instron, Canton, MA, EUA) numa velocidade de 1mm/min^{14,15} com célula de carga de 50Kgf. Um cinzel de alumínio foi posicionado na parte superior do braquete, exercendo uma força em direção oclusogengival até a ruptura. A média de RU por cisalhamento foi calculada em MPa, sendo que foi obtida pela divisão da área do braquete (mm²) e a força até a ruptura (N). Os testes laboratoriais foram conduzidos de modo que o operador estava cego em relação ao material de colagem.

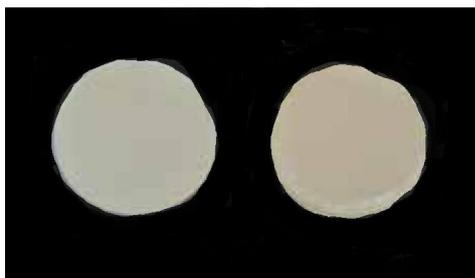


2.6 ANÁLISE DO PADRÃO DE FALHA E SUPERFÍCIE POR MICROSCOPIA

Após os testes de resistência realizados nos braquetes, cada corpo de prova foi analisado por um microscópio óptico com aumento de 20X (estereomicroscópio, *Opticam Microscopy Technology*, Doral, FL, EUA), e classificados de acordo com índice de remanescente adesivo (IRA). A escala utilizada foi a proposta por Artun & Bergland^{21,22} que varia de 0 a 3: Índice 0- nenhuma quantidade de adesivo aderido ao esmalte; 1- menos da metade do adesivo aderido ao esmalte; 2- mais da metade de adesivo aderido ao esmalte e 3- todo o adesivo aderido ao esmalte dentário, inclusive a impressão da malha do braquete.

2.7 CITOTOXICIDADE

Para analisar a viabilidade celular das resinas foram confeccionados 5 discos de cada resina testada numa matriz circular metálica com as dimensões de 1 cm de diâmetro por 1,5 mm de altura. Os discos das resinas comerciais foram confeccionados de acordo com as instruções do fabricante (XT – *primer* específico mais a resina; PLUS – *primer* autocondicionante mais a resina). Os discos das resinas experimentais foram confeccionados colocando o material na matriz e posterior fotopolimerização. Todos os discos foram fotopolimerizados utilizando LED (1400 mW/cm², VALO®, Ultradent, South Jordan, UT, EUA) durante 40s.



Todos os corpos de prova foram esterilizados por radiação ultravioleta por 20 min. Depois estes discos foram armazenados em placas de cultura e adicionados ao meio de cultura de fibroblastos. Estes fibroblastos murinos de linhagem comercial NIH 3T3 (American Type Culture Collection - ATCC® CRL-1658TM) foram mantidos em estufa a 37°C e 5% CO₂ em atmosfera úmida, e cultivadas em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco®) enriquecido com 10% de soro fetal bovino (SFB; Atlanta biologicals®), 100 U mL⁻¹ de penicilina, 100 µg mL⁻¹ de estreptomicina e 250 ng mL⁻¹ Fungizone (anfotericina B; Gibco®). O procedimento adotado foi desenvolvido com base na literatura existente.²¹ O teste consistiu na inoculação das células (4x10⁴ células/mL) em placa de 96 compartimentos.

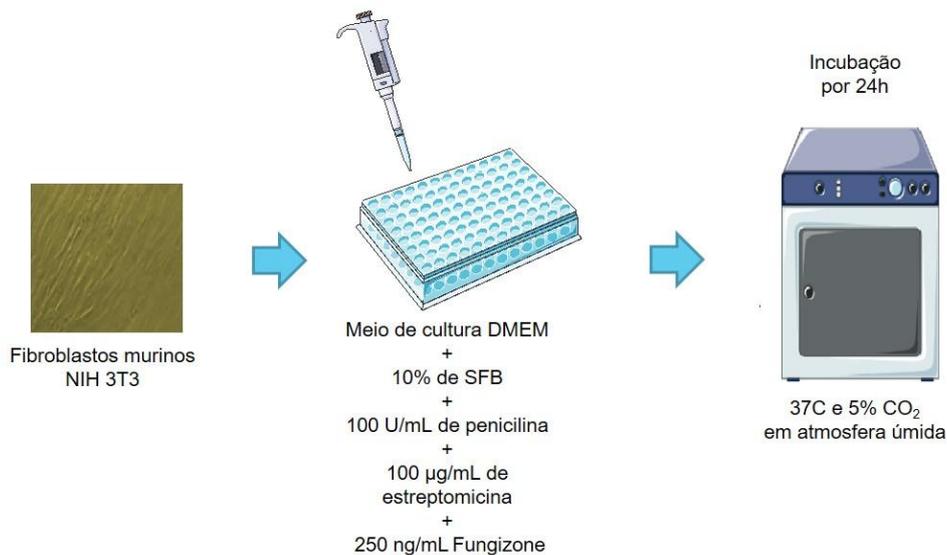


Fig 5 Esquema demonstrativo: Cultura celular

Os discos de resina foram armazenados por 24h em 200 µL de meio DMEM contendo 5% SFB.

Enquanto isso, as células depois de 24h de incubação (37°C, atmosfera úmida, 5% de CO₂), teve todo o meio dos poços aspirado e então adicionado o meio que estava em contato com os discos de resina. Após isso, as placas foram novamente incubadas por 48h,



37°C, atmosfera úmida, 5% de CO₂).

Fig 6 Esquema demonstrativo: Tratamento com os agentes testados

Ao final de 48h, todo meio foi aspirado, substituído por novo meio de cultura contendo DMEM/SFB acrescido de MTT (bromídeo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5difenil-tetrazolio 0,5%). As placas foram incubadas por 4 horas (37°C, atmosfera úmida, 5% de CO₂) e protegidas da luz. Depois desse período, o meio foi trocado por dimetilsulfóxido (DMSO) a 100% (100 µL/poço) e a leitura espectrofotométrica foi realizada a 570 nm. A partir dos valores de absorbância obtidos foram calculadas as porcentagens de viabilidade celular. O cálculo considerou: % Viabilidade = TA / T1 x100 (onde: TA = média da absorbância da célula tratada – absorbância do branco da amostra; T1 = absorbância da suspensão celular sem tratamento). Foram gerados gráficos comparativos entre as concentrações testadas e as porcentagens de crescimento e viabilidade celulares.



Fig 7 Esquema demonstrativo: Avaliação da viabilidade celular

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados com o *software* do programa estatístico SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA). Todos os dados foram inicialmente avaliados em termos de normalidade e igualdade das variâncias pelos testes de Komolgorov-Smirnov e Barlett respectivamente. Para resistência de união por cisalhamento, os dados foram analisados por ANOVA 2-fatores. O IRA foi analisado por Kruskal Wallis. A citotoxicidade foi analisada por ANOVA 1-fator. Para todos os testes foi utilizado o post-hoc de Teste de Tukey para comparação das médias, todos com um nível de significância pré-estabelecido de 5% ($\alpha=0,05$).

APÊNDICE

APENDICE – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Ceuma
Pró-reitoria de pós graduação pesquisa e extensão
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Ceuma
Rua Josué Montello 1, São Luís, MA 65075-120
(98) 3214-4212

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título da Pesquisa: O uso de diferentes monômeros funcionais fosfatados acídicos em resinas ortodônticas autoadesivas

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que tem o objetivo de encontrar novos materiais que promovam uma maior adesividade ao esmalte dental durante a colagem do aparelho ortodôntico fixo. Para isto, precisamos de dentes humanos extraídos para o desenvolvimento do estudo. No entanto, serão utilizados apenas os dentes que já tem uma indicação prévia para extração, ou seja, não serão extraídos dentes exclusivamente para essa pesquisa. Nesse caso, você tem total liberdade se deseja doar para realização desse estudo ou não.

Como esta pesquisa será realizada em dentes extraídos por indicação terapêutica, os riscos a sua saúde, são os mesmos que você teria se não consentisse sua participação, ou seja os mesmos riscos da exodontia terapêutica.

Os benefícios que você terá pela sua participação serão a da contribuição a ciência pela procura de novos materiais e técnicas que melhorem a colagem dos aparelhos ortodônticos sem afetar a estrutura do dente, além de ajudar no seu tratamento.

No decorrer da pesquisa e na publicação dos resultados sua identidade será mantida em sigilo absoluto através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

O prazo máximo de armazenamento deste material biológico será de 6 meses. Caso queira, o participante da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, podem retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico (nesse caso seus dentes).

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade Ceuma, pelo Programa de Mestrado em Odontologia, podendo ser publicados posteriormente em revistas da área de Odontologia. Os dentes utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador e após a conclusão da pesquisa serão descartados conforme as normas de descarte de materiais biológicos da instituição acima citada.

Ressaltamos também que a não concordância em doar os dentes para este estudo não implica em qualquer modificação no tratamento estabelecido.

Caso tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, ou aos seus resultados, poderá entrar em contato com os pesquisadores Prof. Dra. Viviane Hass (98) 98[REDACTED] e Daniella de Oliveira (98) 98[REDACTED]. Ou entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Ceuma pelo telefone (98) 3214-4212.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Você será indenizado por qualquer dano que venha a ocorrer pela sua participação na pesquisa.

São Luís, ____ de _____ de _____

Assinatura do participante ou seu representante legal

Assinatura do Pesquisador Responsável