



**CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS**

LILIANA GIRÃO BARRETO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL E DO GRAU DE
CONVERSÃO DE RESINAS *BULK FILL***

FORTALEZA

2019

LILIANA GIRÃO BARRETO

AValiação DA RESPOSTA TECIDUAL E DO GRAU DE CONVERSÃO
DE RESINAS *BULK FILL*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro Universitário Christus como requisito parcial para a obtenção título de mestre em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Biomateriais. Linha de pesquisa: Resinas *Bulk fill*.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Cláudio Fernandes Alves e Silva
Co-orientadora: Profa. Dra. Juliana Paiva Marques Lima

Fortaleza

2019

Ficha Catalográfica elaborada por Dayane Paula Ferreira Mota – Bibliotecária – CRB-3/1310

B273a Barreto, Liliana Girão.
Avaliação da resposta tecidual e do grau de conversão de resinas bulk
fill / Liliana Girão Barreto. – 2019.
39 f. : il. ; color.

Dissertação (Mestrado) – Centro Universitário Christus - Unichristus,
Mestrado em Ciências Odontológicas, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Francisco Cláudio Fernandes Alves e Silva.

Coorientação: Profa. Dra. Juliana Paiva Marques Lima.

Área de concentração: Biomateriais.

1. Resinas. 2. Toxicidade. 3. Bulk fill. I. Título.

CDD 617.675

LILIANA GIRÃO BARRETO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro Universitário Christus como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Biomateriais. Linha de pesquisa: *Resinas Bulk fill*.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Cláudio Fernandes Alves e Silva

Co-orientadora: Profa. Dra. Juliana Paiva Marques Lima

Aprovado em: ___/___/___

Banca examinadora

Prof. Dr. Francisco Cláudio Fernandes Alves e Silva
Centro universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dra. Juliana Paiva Marques Lima Rolim
Centro universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Vicente de Paulo Aragão Sabóia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de participar dessa conquista pessoal e profissional.

A minha família pelo apoio e torcida.

A meu pai **Hermano Barreto** que, do céu, sei que torce e vibra por mim.

Ao meu companheiro **Clodoaldo Sousa** pelo apoio irrestrito e por segurar minha mão em todos os momentos.

Ao meu filho **Eduardo Barreto** por me fazer querer ser sempre um ser humano melhor.

A todos os professores que me ajudaram a trilhar esse caminho até aqui.

A todos os funcionários e colaboradores da **Unichristus** pelo apoio operacional.

A minha irmã de jornada de vida **Adriana Correia** por estar sempre sempre ao meu lado.

A **Isabella Resende**, minha amiga mais improvável, por toda a parceria e amizade sinceras.

A **Jordana Medeiros** por sua doçura e carinho.

A **Jonhdner Amaral** por seu exemplo de perseverança.

A toda a turma de mestrado que é especial em sua essência.

Ao meu mestre, orientador e exemplo **Francisco Cláudio Fernandes** pela confiança e por estar ao meu lado nessa caminhada.

A minha co-orientadora **Juliana Paiva Marques** por contribuir imensamente na construção desse trabalho.

Ao meu mestre e amigo **Paulo Goberlânio** por sua disposição e ajuda fundamentais e pelo carinho e amizade.

Aos acadêmicos **José Vitor Mota Lemos, Joyce Ohana de Lima Martins, Milena Oliveira Freitas, Larissa carvalho Machado, Maria Thaynara Aguiar, Marcela Maria Fontes Borges, Rivelino Félix de Araújo Filho, Anna Clara Aragão, Kamila França Pimentel** e toda a equipe do Projeto Bulk fill por todo esforço e empenho para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao **Laboratório de espectroscopia vibracional e microscopia (LEVM)** da UFC.

A todos que torceram e enviaram energias positivas.

RESUMO

As resinas *Bulk fill* permitem, com a incorporação de novos fotoiniciadores, além de uma contração de polimerização controlada, um grau de conversão adequado, mesmo quando polimerizadas em incrementos de até 5mm. Este estudo teve por objetivo comparar a toxicidade tecidual, o grau de conversão, e a relação entre os resíduos de monômeros de Bis-GMA e UDMA não polimerizados de três resinas do tipo *Bulk fill* (Filtek™ One Bulk Fill, Tetric N Ceram *Bulk fill* e Sonic fill Bulk fill) polimerizadas em espessuras de 2mm (BF-Superficial) e 4mm (BF-Profunda), em relação a sua versão convencional (RC) (Filtek Z350 XT, Tetric N-Ceram e Herculite Classic). Foram utilizados 189 discos de resina (5mmø x 2mm) divididos em 9 grupos, dos quais 162 foram implantados no tecido subcutâneo do dorso de 54 ratas Wistar (n=6) para análise da resposta tecidual após 07, 14 e 28 dias da inoculação, através da análise do infiltrado inflamatório que foi classificado em escores. Os escores histológicos foram expressos em forma de mediana de acordo com o padrão inflamatório e analisados por meio dos testes Kruskal-Wallis ou Friedman seguidos do pós-teste de Dunn. Os demais discos (27) (n=3) foram utilizados imediatamente após a polimerização para a análise do grau de conversão (GC) por espectroscopia de infravermelho (FTIR), onde os dados foram expressos em média e erro-padrão e analisados pelo teste ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni (p<0,05). Foi realizada ainda a análise da relação entre os monômeros residuais de Bis-GMA e UDMA. Na análise histológica, todas as amostras de todos os sítios apresentaram, após sete dias do procedimento cirúrgico, intenso infiltrado inflamatório (mediana 3). Em todos os grupos, no sítio Sham, onde não houve inserção de discos de resinas, a partir do 14º dia, não foi constatada inflamação. Nas resinas da marca 3M ESPE®, após 14 dias, o sítio resina convencional (RC) apresentou moderado infiltrado inflamatório (mediana 2) e nos sítios tratados com resina *Bulk fill* a inflamação esteve entre moderada e intensa (mediana 2 a 3). Após 28 dias, não houve diferença entre a intensidade do infiltrado inflamatório nos sítios cirúrgicos do grupo Sham (mediana 0), resina controle (mediana 2) e resinas *Bulk fill* Superficial (mediana 1) ou Profunda (mediana 2) (p=0,099). Nas resinas da marca IVOCLAR®, todos os sítios onde houve implantação de resinas apresentaram intenso infiltrado inflamatório (mediana 3) após 14 dias. No 28º dia, todos os sítios apresentaram inflamação discreta ou ausente (mediana 0 a 1) (p=0,163). Nas resinas da marca KERR®, no 14º dia e no 28º dia, os escores de intensidade do infiltrado inflamatório foram significativamente maiores nos sítios tratados com resina *Bulk fill*

tanto superficial como profundo (mediana 2) em comparação com o sítio Sham (mediana 0 a 1) ($p=0,028$ e $p=0,031$, respectivamente). O grau de conversão médio das resinas da marca 3M ESPE® não diferiu significativamente quando comparando a resina controle ($92,9\pm 2,0\%$), *Bulk fill*-superficial ($91,6\pm 5,7\%$) e *Bulk fill*-profunda ($80,6\pm 4,4\%$) ($p=0,235$). O grupo das resinas Ivoclar® apresentou maior grau de conversão nas resinas controle ($85,5\pm 5,5\%$) e *Bulk fill* superficial ($89,5\pm 5,4\%$), diferentemente da região profunda da sua resina *Bulk fill* ($58,7\pm 1,2\%$) ($p=0,005$). As resinas da marca Kerr® controle ($95,9\pm 2,4\%$) e *Bulk fill* -superficial ($94,4\pm 5,8\%$) apresentaram maior grau de conversão que a sua *Bulk fill*-profunda ($43,6\pm 9,6\%$) ($p=0,011$). Não houve diferença no grau de conversão das resinas controle ($p=0,264$), ou *Bulk fill* -superficial ($p=0,611$), no entanto, a resina *Bulk fill*-profunda 3M ESPE® apresentou maior grau de conversão que a mesma resina da marca Kerr®, sem apresentarem, ambos os grupos, diferenças em relação a marca Ivoclar® ($p=0,015$). A relação entre os monômeros de Bis-GMA/UDMA residuais apresentou como resultado um valor maior para a porção profunda da resina *Bulk fill* da marca Kerr®. Os demais grupos não apresentaram diferença estatística significativa entre si. Conclui-se que as resinas que apresentam menor grau de conversão, associado a uma maior relação entre os monômeros residuais Bis-GMA/UDMA, apresentaram maiores níveis de inflamação tecidual e esta reação manteve-se por mais tempo.

Palavras-chave: Resinas, Toxicidade, *Bulk fill*

ABSTRACT

Bulk fill resins allow, with the addition of new photoinitiators, in addition to a controlled polymerization contraction, a suitable degree of conversion even when polymerized in increments of up to 5mm. The aim of this study was to compare the tissue toxicity, the degree of conversion, and the relationship between the unpolymerized Bis-GMA and UDMA monomer residues of three *Bulk fill* resins (Filtek™ One Bulk Fill, Tetric N Ceram Bulk fill and Sonic fill Bulk fill) in 2 mm (BF-Superficial) and 4 mm (BF-Deep) thicknesses, relative to its conventional version (RC) (Filtek Z350 XT, Tetric N-Ceram and Herculite Classic). A total of 189 resin discs (5mm x 2mm) divided into 9 groups were used, of which 162 were implanted in the subcutaneous tissue of the dorsum of 54 Wistar rats (n = 6) to analyze the tissue response after 7, 14 and 28 days of inoculation, through the analysis of the inflammatory infiltrate that was classified in scores. Histological scores were expressed as median according to the inflammatory pattern and analyzed using the Kruskal-Wallis or Friedman tests followed by Dunn's post-test. The other discs (27) (n = 3) were used immediately after the polymerization for analysis of the conversion degree (GC) by infrared spectroscopy (FTIR), where the data were expressed as mean and standard error and analyzed by ANOVA test followed by the Bonferroni post-test (p <0.05). It was also carried out the analysis of the relationship between the residual monomers of Bis-GMA and UDMA. In the histological analysis, all samples from all sites presented, after seven days of the surgical procedure, an intense inflammatory infiltrate (median 3). In all groups, at the Sham site, where there was no insertion of resin discs, from the 14th day, no inflammation was observed. In the resins of the brand 3M ESPE®, after 14 days, the site conventional resin (CR) presented moderate inflammatory infiltrate (median 2) and in the sites treated with resin *Bulk fill* the inflammation was between moderate and intense (median 2 to 3). After 28 days, there was no difference between the intensity of the inflammatory infiltrate at the Sham (median 0), control (median 2) and *Bulk fill* Resin (median 1) or deep (median 2) resins (p = 0.099). In the resins of the brand IVOCLAR®, all sites where resin implantation showed intense inflammatory infiltrate (median 3) after 14 days. On the 28th day, all sites had mild or absent inflammation (median 0 to 1) (p = 0.163). In the resins of the KERR® brand, on day 14 and day 28, the intensity scores of the inflammatory infiltrate were

significantly higher in the sites treated with both superficial and deep *Bulk fill* resin (median 2) compared to the Sham site (median 0 to 1) ($p = 0.028$ and $p = 0.031$, respectively). The average conversion degree of 3M ESPE® resins did not differ significantly when comparing the control resin ($92.9 \pm 2.0\%$), Bulk fill-superficial ($91.6 \pm 5.7\%$) and *Bulk fill*-deep ($80.6 \pm 4.4\%$) ($p = 0.235$). The group of Ivoclar® resins showed a higher degree of conversion in the control ($85.5 \pm 5.5\%$) and *Bulk fill* ($89.5 \pm 5.4\%$) resins, in contrast to the deep region of their *Bulk fill* resin ($58, 7 \pm 1.2\%$) ($p = 0.005$). Kerr ® resins ($95.9 \pm 2.4\%$) and Bulk-fill ($94.4 \pm 5.8\%$) showed a higher degree of conversion than their *Bulk fill*-deep ($43.6 \pm 9, 6\%$) ($p = 0.011$). There was no difference in the degree of conversion of the control resins ($p = 0.264$), or *Bulk fill* -superficial ($p = 0.611$), however, the 3M ESPE® *Bulk fill*-deep resin presented a higher degree of conversion than the same resin of the brand Kerr ®, without both groups differing from the Ivoclar ® brand ($p = 0.015$). The ratio of residual Bis-GMA / UDMA monomers resulted in a higher value for the deep portion of the Kerr® brand Bulk fill resin. The other groups did not present significant statistical difference among themselves. It was concluded that the resins with the lowest conversion degree, associated with a higher ratio between the residual monomers Bis-GMA / UDMA, presented higher levels of tissue inflammation and this reaction was maintained longer.

Key words: Resins, Toxicity, *Bulk fill*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo Geral.....	12
2.2. Objetivos Específicos.....	12
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1 Protocolo para obtenção das amostras.....	16
4.2 Protocolo experimental.....	18
4.3 Processamento histológico.....	19
4.4 Análise microscópica.....	19
4.5 Análise do grau de conversão (FTIR).....	20
4.6 Avaliação da relação entre resíduos de Bis-GMA (1609.4cm ⁻¹) e UDMA (1537cm ⁻¹).....	21
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
6. RESULTADOS	22
6.1 Análise histopatológica do tecido subcutâneo: Resinas 3M ESPE®.....	22
6.2 Análise histopatológica do tecido subcutâneo: Resinas Ivoclar®.....	23
6.3 Análise histopatológica do tecido subcutâneo: Resinas Kerr®.....	24
6.4 Avaliação do grau de conversão.....	26
6.5 Avaliação da relação entre resíduos de Bis-GMA (1609.4cm ⁻¹) e UDMA (1537cm ⁻¹).....	27
7. DISCUSSÃO.....	28
8. CONCLUSÃO	32
9. REFERÊNCIAS	33
10. ANEXOS.....	39

1. Introdução

A resina composta (RC) tornou-se o material de escolha para restaurações diretas, tanto pela sua facilidade de aplicação clínica como pelo seu fator estético (FRONZA *et al*, 2015). As resinas compostas são constituídas principalmente por uma matriz orgânica, carga inorgânica e um agente de união. Além desses três constituintes principais, também possuem um fotoiniciador (e muitas vezes um co-iniciador) para permitir a fotopolimerização da matriz, estabilizadores para aumentar a vida útil do produto não polimerizado e pigmentos. As cargas podem ser de uma variedade de materiais tais como quartzo moído, sílica fundida, ou vidros de silicato, e podem ser de tamanhos diferentes, desde alguns nanômetros a alguns micrômetros (FRONZA *et al*, 2015). A própria matriz polimérica é tipicamente constituída por uma mistura de diferentes monômeros de dimetacrilato, de modo a conferir as propriedades desejadas à resina (FRONZA *et al*, 2015). Os monômeros mais comumente usados na matriz de resina são bisfenil-glicidil-metacrilato (Bis-GMA), dimetacrilato de uretano (UDMA), ambos bastante viscosos e com alto peso molecular, e o dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA) com finalidade principal de aumentar a fluidez das resinas (LEMPEL *et al*, 2016).

Adversamente, há a possibilidade de falha na completa conversão dos monômeros em polímeros podendo acarretar, além de falhas mecânicas, danos biológicos aos tecidos (CHANG *et al*, 2009). Os mais recentes esforços tem sido direcionados para diminuir essas falhas na polimerização das RCs e a principal estratégia tem sido a incorporação de monômeros que se comportem de forma a diminuir esses efeitos durante sua polimerização (CEBE *et al*, 2015).

O GC total depende principalmente de fatores intrínsecos, tais como a estrutura química do monômero, concentração do iniciador de polimerização, além de fatores extrínsecos, tais como condições de polimerização (ALSHALI *et al*, 2013). A biocompatibilidade da RC é determinada principalmente pelo seu grau de conversão (GC), uma vez que esse fator pode determinar a liberação maior ou menor de monômeros não polimerizados durante seu processo de cura (GOLDBERG *et al*, 2008). Outro fator que influencia o GC é a espessura do incremento e, por isso, se indica a utilização de

incrementos de no máximo 2mm de espessura (KIM *et al*, 2011). A diminuição no GC pode levar a uma diminuição nas propriedades físico-mecânicas e um aumento na liberação de monômeros para o meio bucal (LAGOCKA *et al*, 2015). Algumas destas substâncias têm características citotóxicas (WATAHA, 2008), mutagênicas (MANOJLOVIC *et al*, 2017), podendo causar reações inflamatórias nos tecidos gengival, pulpar e na mucosa oral (CEBE *et al*, 2015).

As resinas *Bulk fill*, nesse contexto, vem com o propósito de permitir a polimerização em incrementos de até 5mm de espessura, com de um grau de conversão adequado e economia de tempo clínico (CAMPODONICO *et al*, 2011). A tecnologia empregada na formulação desses materiais varia de acordo com o fabricante, sendo que alguns mecanismos para assegurar propriedades mecânicas e biológicas adequadas são o emprego de novos monômeros à base de metacrilato, utilização de moduladores químicos da reação de polimerização, novos sistemas fotoiniciadores, aumento da translucidez e o reforço da fase inorgânica por fibra de vidro (BUCUTA *et al*, 2014). Apesar da literatura abordar vastamente as características mecânicas destes materiais, ainda não há dados publicados acerca da possível reação inflamatória tecidual causada pela liberação de compostos não totalmente polimerizados em tecidos vivos. Os estudos publicados que abordam tais reações são realizados com a inoculação em culturas celulares, mais comumente fibroblatos ou células pulpares (PONGPRUEKSA, *et al*, 2015). A metodologia utilizada neste estudo apresenta-se como uma forma de avaliar as possíveis reações inflamatórias em tecido conjuntivo semelhante aos tecidos pulpares e periodontais, simulando o uso clínico.

Diante do exposto e da grande publicidade empregada na tentativa de popularizar esses materiais, torna-se necessário a avaliação de suas características químicas e biológicas a fim de garantir sua confiabilidade e segurança de uso, avaliando *in vivo* as possíveis alterações inflamatórias teciduais causadas pelo contato com os mesmos.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade tecidual e o grau de conversão de três resinas *Bulk fill* em relação a três resina convencionais.

2.2 Objetivos específicos

- Comparar a toxicidade tecidual de três resinas *Bulk fill* em relação a resina convencional da mesma marca em tempos diferentes (7, 14 e 28 dias).
- Comparar a toxicidade tecidual de três resinas *Bulk fill* em relação a resina convencional da mesma marca em espessuras diferentes (2 e 4mm).
- Comparar o grau de conversão três resinas *Bulk fill* em relação a resina convencional da mesma marca em espessuras diferentes (2 e 4mm).
- Comparar a relação entre os resíduos de Bis-GMA e UDMA presentes após a polimerização com 2 e 4mm de espessura.

3. Referencial teórico

Em 1963 foi proposta a formulação de um material estético definitivo para uso em dentes anteriores. Sua formulação baseava-se em no reforço da matriz orgânica com fibras e partículas inorgânicas que foram tratadas com vinilsilano. Esses materiais apresentavam menor contração de polimerização e maior resistência a compressão que as resinas acrílicas e os cimentos de silicato disponíveis na época (BOWEN, 1963).

Desde então, estes materiais passaram por várias mudanças como ativação por luz UV e adição de monômeros dimetacrilatos de diferentes pesos moleculares e modificações no tamanho e no volume das partículas de carga (FERRACANE *et al*, 2011).

O monômero mais comumente utilizado na composição das resinas composta é o Bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA), resultado da reação do bisfenol A com glicidil éster dimetacrilato (GMA) (SIDERIDOU *et al*, 2002). Devido ao elevado peso molecular (510,6 g/mol) e à alta viscosidade (1200 Pa), que restringem a mobilidade das espécies reativas durante a polimerização, o grau de conversão do seu homopolímero em 24 horas é de apenas 34,5% e a contração de polimerização de aproximadamente 6,4% (KALACHANDRA *et al*, 1993). Para alcançar maiores valores de conversão, faz-se necessária a adição de monômeros de menores pesos moleculares como o trietileno glicol dimetacrilato (TEGDMA) e o uretano dimetacrilato (UDMA), o que melhora a reatividade dos componentes e, dependendo da proporção empregada, pode aumentar a conversão monomérica para até 60,9% e 57,1%, respectivamente (KHATRI *et al*, 2003).

O processo de polimerização das resinas fotoativáveis é uma reação desencadeada pela irradiação da luz azul que sensibiliza uma molécula fotoiniciadora, geralmente a canforoquinona, e gera radicais livres que clivam a ligações insaturadas dos grupos metacrilato, gerando uma reação em cadeia que pode levar à formação de longas cadeias poliméricas ou ao estabelecimento de ligações cruzadas entre cadeias (BAUSCH *et al*, 1981).

A extensão da conversão polimérica nas resinas compostas pode ser medida quantitativamente pela comparação da quantidade de duplas ligações C=C remanescentes em relação à quantidade inicial. Essa relação é expressa em % e denominada Grau de conversão (GC) (LEPRINCE *et al*, 2013).

A extensão da polimerização pode ser influenciada pelo tipo de compósito, composição monomérica (CZASCH *et al*, 2013), fração inorgânica (CONDITT *et al*,

2006), viscosidade da massa, espessura do incremento, temperatura da reação, protocolo de fotoativação e por tratamentos secundários de cura (FERRACANE et al, 1992).

O grau de conversão das resinas pode variar de 34,7% a 77,1%, podendo haver um aumento de até 36% nas primeiras 24 horas (ALSHALI et al, 2013). Ainda assim, nenhum material é capaz de converter-se completamente em polímero. Como resultado, monômeros não reagidos permanecem na estrutura polimérica, podendo levar a alteração na cor da restauração quando liberados para o meio, além de diminuição da resistência e até reações de hipersensibilidade nos tecidos adjacentes à restauração (JANDT et al, 2009).

Estudos têm comprovado que a reação de polimerização não se restringe apenas ao momento de aplicação da luz, mas pode perdurar mais lentamente por alguns dias (GAJEWSKI et al, 2012; ALSHALI et al, 2013). Mesmo assim, ao final do processo, ligações duplas permanecem como unidades de monômeros não reagidos ou grupos metacrilatos nas extremidades de cadeias poliméricas (LOVELL et al, 1999; BAGIS et al, 1997).

É sabido que maiores valores de grau de conversão implicam em uma menor quantidade de monômeros não reagidos e que a liberação destes pode ser irritante aos tecidos adjacentes à restauração (JANDT et al, 2009). Estudos tem comprovado a relação positiva direta do grau de conversão sobre propriedades como biocompatibilidade da restauração (CAUGMAN et al, 1991; BAGIS et al, 1997).

A técnica restauradora com resinas convencionais apresenta a limitação da fotoativação de incrementos de no máximo 2mm de espessura, o que aumenta o tempo de procedimento clínico e pode levar a incorporação de bolhas ou contaminação entre os incrementos, levando a falhas adesivas (HIRATA et al, 2015).

Visando tornar a técnica restauradora mais ágil, foram desenvolvidas as resinas *Bulk fill*. Segundo os fabricantes, esses materiais podem ser fotoativados em incrementos de até 5mm com cura e propriedades mecânicas garantidas, além de baixa contração volumétrica e menor tensão de polimerização na interface adesiva, produzindo menor deflexão de cúspides (SCOTTI et al, 2014).

Alguns mecanismos para tanto são a utilização de novos monômeros, o aumento da translucidez permitindo maior penetração de luz, a ativação dual, que permite a cura química em maiores profundidades, a utilização de moduladores reológicos, que minimizam a tensão de polimerização, a inserção de um material de alta viscosidade

auxiliada pela emissão de ondas sônicas, o que aumenta a fluidez e melhora a adaptação marginal, a modificação da fase inorgânica como a utilização de fibras de reforço o que confere maior resistência à restauração ou a associação destes. (FLURY *et al*, 2014; GAROUSHI *et al*, 2013; BUCUTA *et al*, 2013).

O conteúdo de carga das resinas do tipo *Bulk fill* pode variar entre 60,7% a 85,3% em peso e o grau de conversão de 43,6% a 76,5% (LEPRINCE *et al*, 2014). A contração volumétrica de polimerização destes materiais varia entre 1,76% e 3,36% (BENETTI *et al*, 2015).

Assim como nas resinas convencionais, esses materiais podem ser classificados quanto à sua viscosidade. Em geral, materiais *Bulk fill* do tipo flow apresentam menores dureza superficial e módulo de elasticidade. Por esse motivo, sua indicação restringe-se à aplicação como base, havendo necessidade de recobrimento oclusal por um material com maior resistência ao desgaste (ILIE *et al*, 2013). Dentre os materiais de alta viscosidade, existem aqueles que devem ser recobertos por outro material e aqueles que possuem resistência suficiente para suportar cargas oclusais (KIM *et al*, 2015).

Eventos como diminuição da viabilidade celular e alterações morfológicas celulares como retração e arredondamento foram observados em avaliações de citotoxicidade *in vitro* com a incubação de fibroblastos com resinas *bulk fill*. Isso sugere que maiores espessuras implicam em cura deficiente e maior lixiviação de monômeros não reagidos, diminuindo a biocompatibilidade do material (TOH *et al*, 2015). Alguns monômeros residuais, como TEGDMA e Bis-GMA, que são liberados de resinas compostas, induzem citotoxicidade diferencial e apoptose em células da polpa dental humana (CHANG *et al*, 2009). Estudos demonstram que monômeros, como TEGDMA, HEMA e Bis-GMA, induzem a produção de stress oxidativo nas células da polpa dentária (ECKHARDT *et al*, 2009). O BisGMA exerce ação citotóxica pela expressão de COX2 e produção de PGE2 via espécies reativas de oxigênio através de diferentes vias de sinalização química. (CHANG ET AL, 2009). Embora existam estudos independentes avaliando a citotoxicidade ou eluição (LANDUYT *et al*, 2011; SEISS *et al*, 2009) de compósitos dentais, ainda há ambiguidade sobre o papel da composição na eluição e sua correlação com a citotoxicidade em diferentes linhagens celulares (PONGPRUEKSA *et al*, 2015).

4. Materiais e métodos

4.1 Protocolo para obtenção das amostras

Os compósitos utilizados no presente trabalho estão descritos no quadro 1.

QUADRO 1:

RESINAS	ESPESSURA	TEMPO DE ATIVAÇÃO	COMPOSIÇÃO	QUANTIDADE DE CARGA (PESO)	COR	FABRICANTE
Filtek Z350 XT	2mm	20s	BIS-GMA, UDMA, TEGDMA, HEMA, SÍLICA, ZIRCÔNIA	78,5%	A2E	3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN, USA
Filtek™ One Bulk Fill	2mm	20s	AUDMA, UDMA, MONÔMERO AFM, SÍLICA, ZIRCÔNIA, TRIFLUORETO DE ITERBIO	76,5%	A2	3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN, USA
Filtek™ One Bulk Fill	4mm	20s	AUDMA, UDMA, MONÔMERO AFM, SÍLICA, ZIRCÔNIA, TRIFLUORETO DE ITERBIO	76,5%	A2	3M ESPE Dental Products, St. Paul, MN, USA
Tetric N-Ceram	2mm	20s	UDMA, BIS-GMA, BIS-EMA, BÁRIO, TRIFLUORETO DE ITERBIO	63,5%	A2	Ivoclar, Vivadent, AG, Schaan, Liechtenstein
Tetric N-Ceram Bulk fill	2mm	20s	BIS-GMA, BIS-EMA, UDMA, BÁRIO, TRIFLUORETO DE ITERBIO	61%	IVA	Ivoclar, Vivadent, AG, Schaan, Liechtenstein
Tetric N-Ceram Bulk fill	4mm	20s	BIS-GMA, BIS-EMA, UDMA BÁRIO, TRIFLUORETO DE ITERBIO	61%	IVA	Ivoclar, Vivadent, AG, Schaan, Liechtenstein
Herculite Classic	2mm	20s	BIS-GMA, TEGDMA, BOROSSILICATO DE ALUMÍNIO, SÍLICA COLOIDAL	79%	A2	Kerr Co., Orange, CA, USA
Sonic fill Bulk fill	2mm	20s	BIS-GMA, TEGDMA, EBPDMA, DIÓXIDO DE SILÍCIO, BÁRIO	69%	A2	Kerr Co., Orange, CA, USA
Sonic fill Bulk fill	4mm	20s	BIS-GMA, TEGDMA, EBPDMA, DIÓXIDO DE SILÍCIO, BÁRIO	69%	A2	Kerr Co., Orange, CA, USA

Os corpos de prova (189) foram preparados usando dois dispositivos de aço de 2mm de espessura com medidas de 4x4cm contendo círculos concêntricos (5mmØ x 2mm) conforme figura 1. As resinas foram inseridas em incremento único em cada círculo e foram recobertas e separadas por fita de poliéster e polimerizadas diretamente por 20 segundos (VALO, Ultradent, South Jordan, UT- 1000mW/cm²). Após a polimerização, os discos foram removidos por extrusão. Dessa forma, foram obtidos corpos compostos por:

1. Disco 1 (5mmØ x 2mm) com a superfície irradiada diretamente no topo. Esses exemplares foram chamados de *Bulk fill* superficiais (BF- Superficial).
2. Disco 2 (5mmØ x 2mm) com a superfície irradiada pela luz filtrada pelo Disco 1, com uma espessura total de 4mm. Esses exemplares foram chamados de *Bulk fill* profundos (BF-Profunda).

Os espécimes de resinas convencionais foram obtidos utilizando somente um dispositivo, obtendo-se discos de 5mmØ x 2mm.



FIGURA 1: Dispositivos de aço de 2mm de espessura com medidas de 4x4cm, contendo círculos concêntricos de 5mmØ x 2mm.

4.2 Protocolo experimental

Cinquenta e quatro ratos Wistar fêmeas entre quarto e seis semanas de idade, pesando entre 180 e 250 g foram usados no estudo. Os animais foram mantidos individualmente em caixas de polipropileno dispostas em salas com temperatura e umidade controlada e receberam água e comida *ad libitum*. Os protocolos seguiram de acordo com a Comissão Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Christus e o projeto foi aprovado com número de 026/15.

Os animais tiveram seu dorso tosado e foram submetidos a antissepsia com spray de clorexidina 2% . Após a antissepsia os ratos foram anestesiados com xilazina (20mg/kg) e quetamina (80mg/kg) (Syntec) e receberam quatro incisões de 2 cm com direção crânio-caudal utilizando individualmente lâmina de bisturi nº 15 acoplada em cabo de bisturi de Bard Parker. As incisões foram realizadas nos quadrantes I (frontal esquerdo), II (frontal direito), III (posterior direito) e IV (posterior esquerdo) em sentido horário a iniciar da porção frontal esquerda. As incisões distavam 3 cm de borda a borda (horizontal e verticalmente) (Figura 2). Após dissecação com pinça de dissecação, o quadrante I foi suturado sem inserção de tubo (grupo Sham), o quadrante II foi suturado com inserção do disco de resina controle e os quadrantes III e IV foram suturados com inserção dos discos com resina *Bulk-Fill* . Os discos foram preparados no momento do procedimento cirúrgico e a sutura foi realizada com fio de nylon 4-0 (Procure) (n=6).

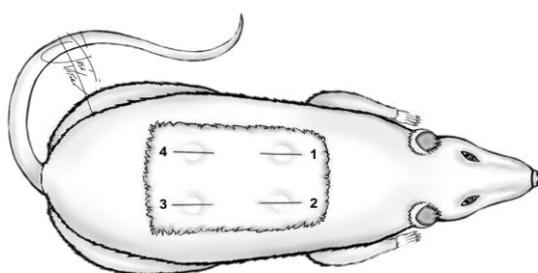


FIGURA 2: Desenho esquemático do modelo experimental de implantação de discos de resina composta fotopolimerizáveis em subcutâneo de ratos Wistar.

Quadrante 1 = Sham; Quadrante 2 = Resina Convencional; Quadrante 3 = Resina *Bulk fill* porção superficial; Quadrante 4 = Resina *Bulk fill* porção profunda.

A eutanásia foi realizada com sobredose de pentobarbital após 7, 14 e 28 dias do procedimento cirúrgico, os dorsos foram excisados cirurgicamente e fixadas em solução de formol neutro a 10% por 24h e depois acondicionadas em álcool 70%.

4.3 Processamento histológico

Após o período de fixação, as amostras foram submetidas a processamento histológico por meio de desidratação em soluções alcólicas de álcool 80%, álcool 90%, álcool 95% e álcool absoluto, diafanização em solução de xilol e embebição em parafina a 65°C em processador automático de tecidos modelo PT09 (Luptec®). Após isso, cortes de 4µm realizados em micrótomo modelo RM 2125 (Leica®) foram dispostos em lâminas de vidro com borda fosca para realização de coloração por hematoxilina-eosina.

Após desparafinização e reidratação, as lâminas foram imersas em solução de hematoxilina de Harris 7% por 5 minutos, lavadas, contra coradas com eosina alcóolica 10% por 10 segundos, desidratadas, diafanizadas e montadas com lamínula de Enthellan®.

4.4 Análise microscópica

As lâminas histológicas foram analisadas cegamente por um patologista oral experiente num microscópio óptico convencional modelo DM2000 (Leica®) acoplado a câmera digital para fotomicrografias modelo DFC 295 (Leica®) utilizando retículo de 1x1 mm dividido em quadrantes de 0,25 mm² de área. Foram selecionados dez campos microscópicos em um aumento de 400x nos quais pudesse ser observada a intensidade do infiltrado inflamatório no sítio observado. O infiltrado inflamatório foi classificado conforme a intensidade como ausente (score 0), leve (score 1) (até 25 células inflamatórias por microcampo), moderado (score 2) (entre 26 e 125 células inflamatórias por microcampo) e intenso (score 3) (mais de 125 células inflamatórias por microcampo) (Gomes-Filho et al., 2009).

4.5 Análise do grau de conversão (FTIR)

Para análise do grau de conversão, foram utilizados 27 discos de resina, sendo n=3. O resultado foi obtido através de espectroscopia no infravermelho. Os parâmetros de leitura utilizados foram : 2 cm⁻¹, 128 varreduras (scans), na faixa entre 520 a 4000 cm⁻¹ e potência de 100mW. Para obtenção do espectro não polimerizado, os espécimes foram obtidos através da inserção do material em placas de aço de 2mm de espessura com perfurações de 5mm de diâmetro, estabilizados com lâminas de vidro e fita adesiva. Os conjuntos foram levados ao espectrofotômetro Vertex (Bruker Optik GmbH). A correção da linha base e a normalização da curva foram feitas através do programa Opus (Bruker Optik GmbH), aumentando sua intensidade, corrigindo e eliminando a interferência de outros elementos como água e oxigênio. As alturas dos picos das bandas de 1610 cm⁻¹ (Bis-GMA) e 1640 cm⁻¹ (UDMA) foram mensuradas e registradas.

Em seguida, o conjunto foi removido do equipamento e fotoativado conforme a metodologia descrita no protocolo de obtenção de amostras e uma nova leitura foi realizada imediatamente após a polimerização para as resinas convencional, *Bulk fill* superficial e *Bulk fill* profunda.

Para o cálculo do GC após a fotoativação, os valores das alturas dos picos das bandas de cada material foram inseridos na seguinte fórmula:

$$GC_{\text{fotopolimerizado}} = 100 \times 1 - \left[\frac{\left(\frac{\text{alifático}}{\text{aromático}} \right)_{\text{fotopolimerizado}}}{\left(\frac{\text{alifático}}{\text{aromático}} \right)_{\text{não curado}}} \right]$$

4.6 Avaliação da relação entre resíduos de Bis-GMA (1609.4cm⁻¹) e UDMA (1537cm⁻¹)

A relação entre os monômeros residuais de Bis-GMA e UDMA foi obtida a partir os resultados do grau de conversão. A relação entre os resíduos consiste em uma proporção entre as quantidades de monômeros de Bis-GMA e UDMA não reagidos. A quantidade de monômeros não reagidos é calculada pela diferença entre a totalidade de monômeros (100%) e a quantidade de monômeros reagidos (GC) que foi obtida pela resultado do grau de conversão.

5. *Análise estatística*

Os escores histológicos foram expressos em forma de mediana (mínima - máxima) e analisados por meio dos testes Kruskal-Wallis ou Friedman seguidos do pós-teste de Dunn e os dados de espectroscopia FTIR e avaliação de monômeros residuais foram expressos em média e erro-padrão e analisados pelo teste ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$, Graph Pad Prism 5.0 para Windows)

6. Resultados

6.1 Análise histopatológica do tecido subcutâneo: Resinas 3M ESPE®

Todas as amostras apresentaram, após sete dias do procedimento cirúrgico, intenso infiltrado inflamatório (mediana = 3). No grupo Sham não houve presença de infiltrado inflamatório (mediana = 0) a partir do 14º dia, enquanto que nos grupos tratados com as resinas, houve redução para todos os grupos no 28º dia pós-cirúrgico ($p < 0,05$).

Após 14 dias da cirurgia os animais do grupo Sham apresentaram infiltrado inflamatório ausente (mediana = 0), o grupo tratado com resina convencional apresentou moderado infiltrado inflamatório (mediana = 2) e os grupos tratados com resina *Bulk fill* a inflamação entre moderada e intensa (mediana 2 a 3). Apesar disso, não houve diferença significativa entre esses grupos ($p = 0,076$). Após 28 dias os resultados foram similares, apesar de pequenas variações, não houve diferença entre a intensidade do infiltrado inflamatório nos sítios cirúrgicos do grupo Sham (mediana = 0), resina controle (mediana = 2) e resinas *Bulk fill* Superficial (mediana = 1) ou Profunda (mediana = 2) ($p = 0,099$).

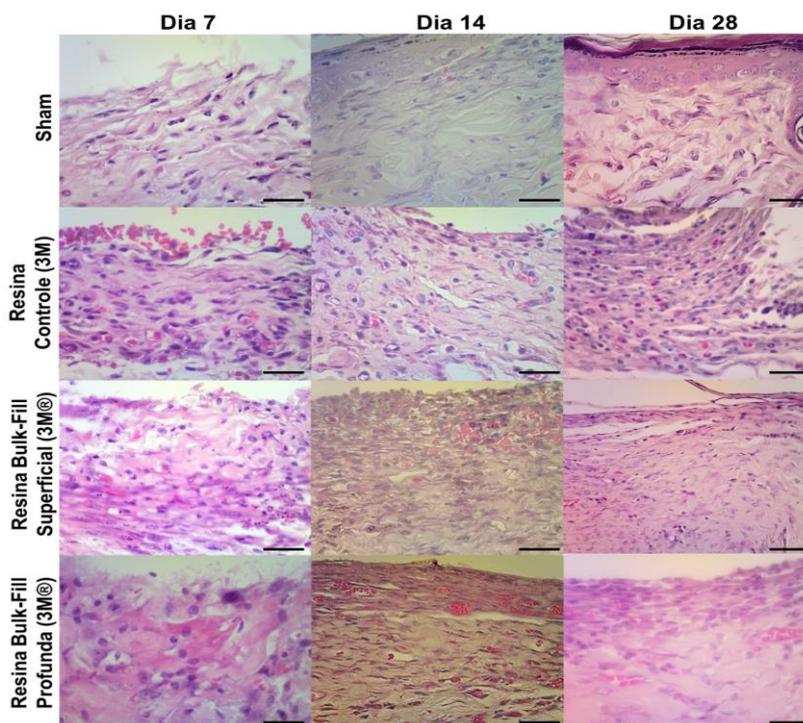


FIGURA 3: Análise histopatológica de discos de resina convencional (controle) Filtek Z350 XT ou Filtek *Bulk fill One* (3M ESPE®), implantadas no subcutâneo de ratos Wistar.

Coloração de Hematoxilina-eosina (400x), linha de referência = 50 μ m.

6.2 Análise histopatológica do tecido subcutâneo: Resinas Ivoclar®

Todas as amostras apresentaram após sete dias do procedimento cirúrgico intenso infiltrado inflamatório no sítio de implantação dos discos, independente do grupo (mediana = 3). No grupo Sham, houve redução significativa dos escores de inflamação a partir do 14º pós-cirúrgico ($p=0,031$), enquanto nos demais grupos essa redução ocorreu igualmente a partir do 28º dia experimental ($p<0,05$).

Após 14 dias todos os sítios submetidos a resinas apresentaram intenso infiltrado inflamatório (mediana = 3), valores significativamente elevados em relação ao grupo Sham ($p=0,036$). No 28º dia, não houve diferença entre os grupos, apresentando todos os sítios inflamação discreta ou ausente (mediana 0 a 1) ($p=0,163$).

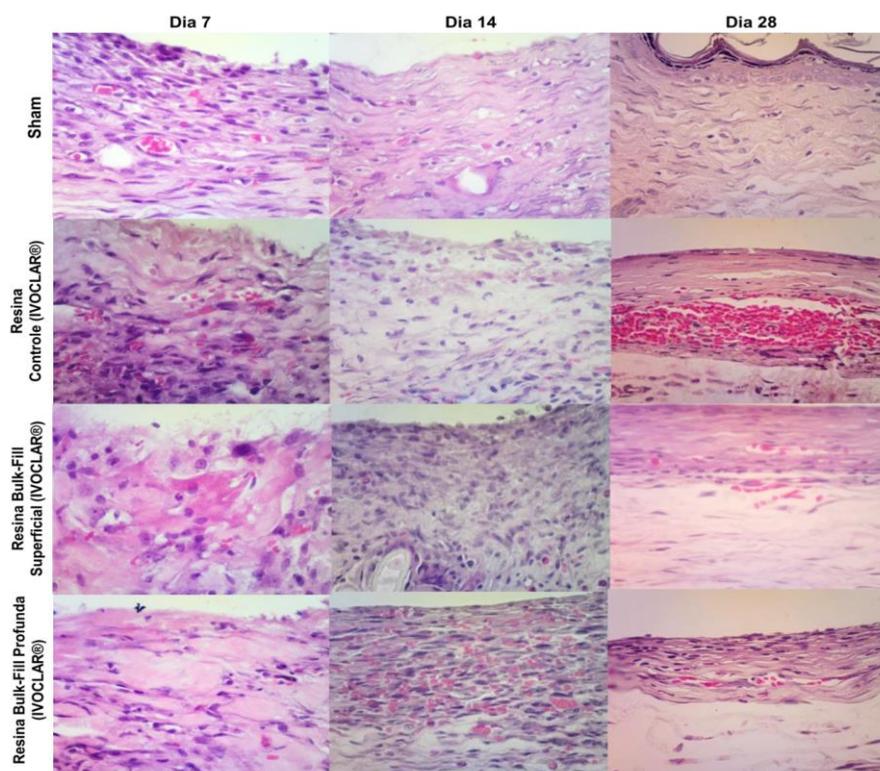


FIGURA 4: Análise histopatológica de discos de resina convencional (controle) Tetric N-Ceram ou *Bulk fill* Tetric N-Ceram Bulk fill (IVOCLAR®) implantadas no subcutâneo de ratos Wistar.

Coloração de Hematoxilina-eosina (400x), linha de referência = 50 μ m.

6.3 Análise histopatológica do tecido subcutâneo: Resinas Kerr®

Todas as amostras, no sétimo dia após a implantação dos discos, apresentaram intenso infiltrado inflamatório, independente se eram do grupo Sham, Resina Controle, Resina *Bulk Fill* Superficial ou Profunda (mediana =3). Após 14 dias do procedimento cirúrgico, o grupo Sham mostrou redução significativa da intensidade do infiltrado inflamatório (mediana = 1) ($p=0,001$), diferente dos grupos tratados com resina controle que apresentaram essa redução apenas a partir do 28º dia (mediana = 0) ($p = 0,017$) e dos grupos com resina *Bulk Fill* Superficial (mediana = 2) e Profunda (mediana = 2) que não apresentaram redução significativa dos escores de inflamação mesmo após 28 dias do procedimento cirúrgico ($p=0,060$ e $p=0,105$, respectivamente).

No 14º dia e no 28º dia os escores de intensidade do infiltrado inflamatório foram significativamente maiores nos grupos tratados com resina *Bulk fill* tanto superficial como profundo (mediana = 2) em comparação com o grupo Sham (mediana = 0 a 1) ($p=0,028$ e $p=0,031$, respectivamente).

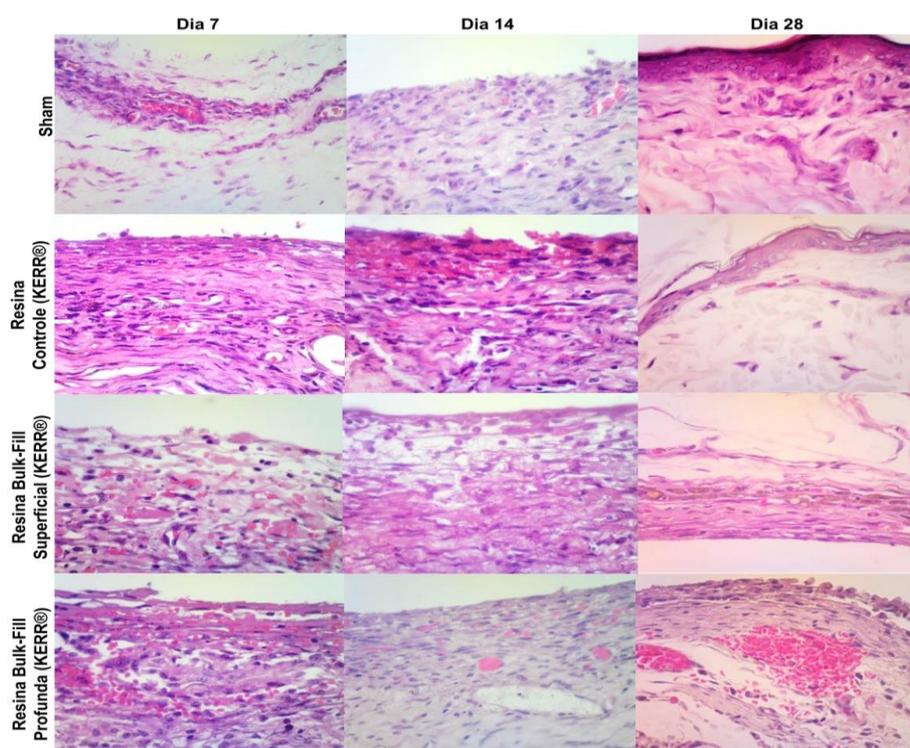


FIGURA 5: Análise histopatológica de discos de resina convencional (controle) Herculite Classic ou *Sonic fill Bulk fill* (KERR®) implantadas no subcutâneo de ratos Wistar. Coloração de Hematoxilina-eosina (400x), linha de referência = 50 μ m.

Tabela 2: Escores de inflamação do tecido subcutâneo de ratos Wistar submetidos a inoculação de discos de resina convencional (controle) ou *Bulk fill*.

	Dia			<i>p</i> -Valor ^b
	7	14	28	
3M ESPE®				
Sham	3 (3-3) ^{Aa}	0 (0-2) ^{Ba}	0 (0-0) ^{Ba}	0,003
Controle	3 (2-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	2 (0-3) ^{Ba}	0,037
Bulk-fill Superficial	3 (3-3) ^{Aa}	3 (2-3) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Ba}	0,009
Bulk-fill Profunda	3 (3-3) ^{Aa}	2 (1-2) ^{Aa}	2 (0-2) ^{Ba}	0,017
<i>p</i> -Valor ^a	1,000	0,076	0,099	
Ivoclar®				
Sham	3 (2-3) ^{Aa}	0 (0-2) ^{Ba}	0 (0-0) ^{Ba}	0,031
Controle	3 (2-3) ^{Aa}	3 (2-3) ^{Ab}	0 (0-0) ^{Ba}	0,010
Bulk-fill Superficial	3 (2-3) ^{Aa}	3 (3-3) ^{Ab}	1 (1-1) ^{Ba}	0,047
Bulk-fill Profunda	3 (2-3) ^{Aa}	3 (3-3) ^{Ab}	1 (0-2) ^{Ba}	0,036
<i>p</i> -Valor ^a	0,533	0,036	0,163	
Kerr®				
Sham	3 (3-3) ^{Aa}	1 (0-2) ^{Ba}	0 (0-1) ^{Ba}	0,001
Controle	3 (2-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aab}	0 (0-2) ^{Ba}	0,017
Bulk-fill Superficial	3 (3-3) ^{Aa}	3 (3-3) ^{Ab}	2 (1-3) ^{Ab}	0,060
Bulk-fill Profunda	3 (3-3) ^{Aa}	2,5 (2-3) ^{Ab}	2 (1-2) ^{Ab}	0,105
<i>p</i> -Valor ^a	0,457	0,028	0,031	

^aTeste Friedman/Dunn; ^bTeste Kruskal-Wallis/Dunn (n=5/grupo); Dados expressos em forma de mediana (mínima - máxima); Letras maiúsculas diferentes = p<0,05 análise intra grupo em dias diferentes; Letras minúsculas diferentes = p<0,05 análise entre grupos no mesmo dia; 0 = Nenhuma célula inflamatória; 1 = 1-25 células inflamatórias/microcampo; 2 = 26-125 células inflamatórias/microcampo; 3 = mais de 125 células inflamatórias/microcampo (Gomes-Filho et al., 2009).

6.4 Avaliação do grau de conversão

O grau de conversão médio das resinas 3M ESPE® não diferiu significativamente quando comparando a resina controle (92,9±2,0%), *Bulk fill*-superficial (91,6±5,7%) e *Bulk fill*-profunda (80,6±4,4%) (p=0,235). O grupo das resinas Ivoclar® apresentou maior grau de conversão nas resinas controle (85,5±5,5%) e *Bulk fill*-superficial (89,5±5,4%), diferentemente da região profunda da sua resina *Bulk fill* (58,7±1,2%) (p=0,005). Da mesma forma as resinas controle (95,9±2,4%) e *Bulk fill*-superficial (94,4±5,8%) da marca Kerr® apresentaram maior grau de conversão que a sua *Bulk fill*-Profunda (43,6±9,6%) (p=0,011).

Não houve diferença no grau de conversão das resinas controle (p=0,264), ou *Bulk fill*-superficial (p=0,611), no entanto, a resina *Bulk fill* -profunda 3M ESPE® apresentou maior grau de conversão que a mesma resina da marca Kerr®, sem apresentarem, ambos os grupos, diferenças em relação a marca Ivoclar® (p=0,015).

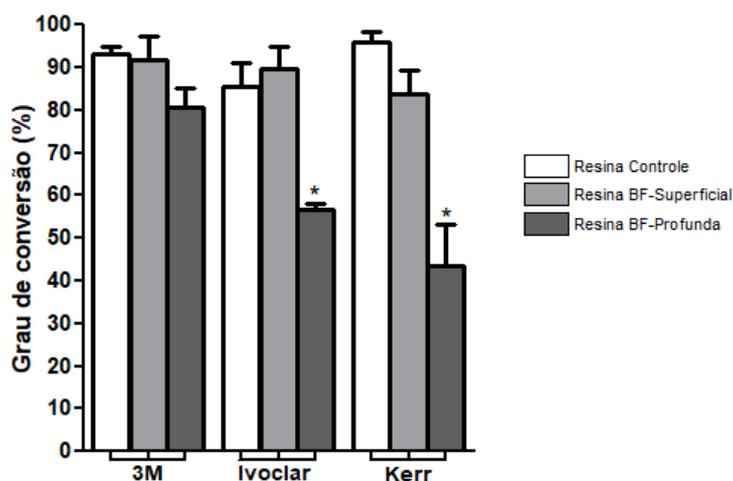


FIGURA 6: Análise do grau de conversão de discos de resina convencional (controle) ou *Bulk fill* (3M ESPE®) superficial ou profunda.

*p<0,05 versus resina controle e BF-superficial da mesma marca (ANOVA/Bonferroni, média±DP).

6.5 Avaliação da relação entre resíduos de Bis-GMA (1609.4cm^{-1}) e UDMA (1537cm^{-1})

A Relação $1609.4\text{cm}^{-1}/1537\text{cm}^{-1}$ do grupo 3M ESPE® não mostrou diferença entre as resinas controle ($0,83\pm 0,05$) ou BF-superficial ($0,72\pm 0,07$) e BF-profunda ($0,79\pm 0,05$) ($p=0,438$). No entanto, a resina Ivoclar® demonstrou menor relação $1609.4\text{cm}^{-1}/1537\text{cm}^{-1}$ nas resinas controle ($0,54\pm 0,02$) que na BF-superficial ($0,83\pm 0,03$) e BF-profunda ($0,82\pm 0,01$) ($p<0,001$). Nas resinas Kerr® a Relação $1609.4\text{cm}^{-1}/1537\text{cm}^{-1}$ foi significativamente menor nas resinas controle ($1,54\pm 0,48$) e BF-superficial ($1,79\pm 0,15$) que na resina BF-profunda ($2,70\pm 0,18$) ($p<0,001$).

Não houve diferença na relação $1609.4\text{cm}^{-1}/1537\text{cm}^{-1}$ nas resinas controle das três marcas ($p=0,108$), porém, a resina Kerr® apresentou Relação $1609.4\text{cm}^{-1}/1537\text{cm}^{-1}$ significativamente maior que as resinas 3M ESPE® e Ivoclar® tanto na porção superficial ($p<0,001$) como profunda ($p<0,001$) do tipo *Bulk fill*.

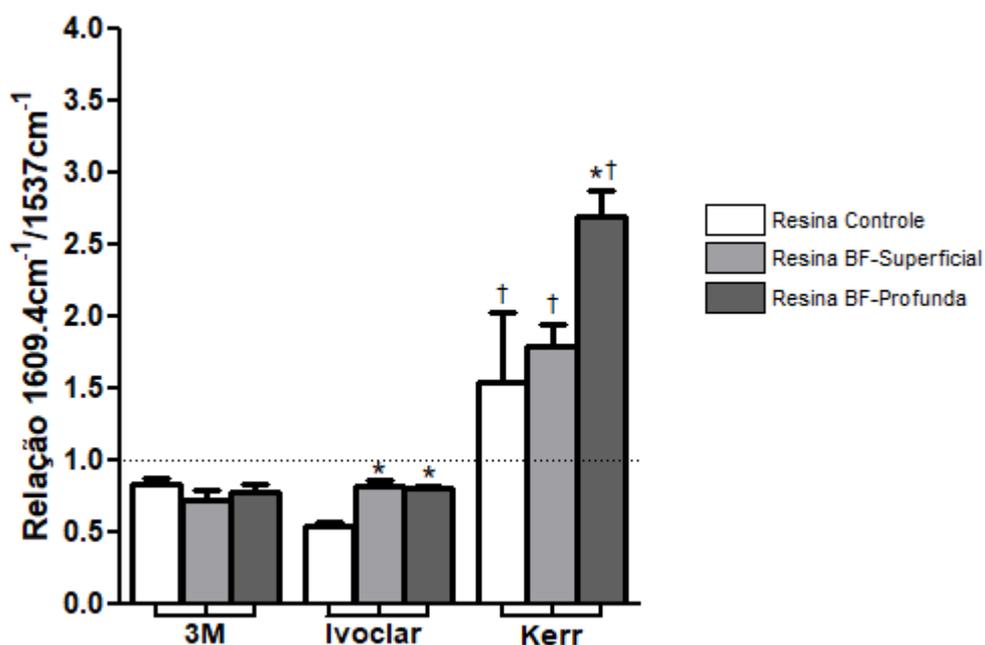


Figura 7: Análise da relação dos picos $1609.4\text{cm}^{-1}/1537\text{cm}^{-1}$ de discos de resina convencional (controle) ou *Bulk fill* superficial ou profunda (3M ESPE®).

* $p<0,05$ versus resina controle da mesma marca; † $p<0,05$ versus resinas do mesmo tipo das demais marcas (ANOVA/Bonferroni, média±DP).

7. Discussão

A técnica de inserção das resinas em camadas incrementais tem sido o padrão para converter suficientemente os monômeros e minimizar os efeitos da contração de polimerização (KIM *et al*, 2011). Esta técnica consiste em colocar incrementos oblíquos de material resinoso em uma espessura de 2 mm ou menos, seguidos de exposição à fotopolimerização, e depois repetir os incrementos até que a cavidade seja totalmente preenchida (PILO *et al*, 1999). Uma vantagem óbvia desta técnica é a limitação da espessura da resina a ser penetrada pela luz. Portanto, limitar a espessura dos incrementos permite a penetração de luz adequada e subsequente polimerização. Apesar desses benefícios, existem várias desvantagens associadas às técnicas incrementais, como a possibilidade de formação de bolhas na incorporação ou contaminação entre camadas de resina, falhas de adesão entre os incrementos, dificuldade de inserção devido ao acesso limitado em pequenas cavidades e o aumento do tempo clínico (SARRETT , 2005).

Para superar essas desvantagens, os compostos do tipo *Bulk fill* foram introduzidos. Esses materiais prometem promover a transmissão de luz para permitir a obtenção de uma profundidade de polimerização superior a 4 mm (VAN ENDE *et al*, 2013; CAMPODONICO *et al*, 2011). Embora existam poucos estudos na literatura investigando o desempenho clínico de compósitos *Bulk fill* (VAN DIJKEN *et al*, 2014), investigações laboratoriais da qualidade marginal (CAMPOS *et al*, 2014), deflexão da cúspide (CAMPODONICO *et al*, 2011), deflexão da cúspide em conjunto com microinfiltração (MOORTHY *et al*, 2012), adesão à parede de dentina inferior (VAN ENDE *et al*, 2013) e GC (FINAN *et al*, 2013) foram relatadas. No entanto, nenhum estudo em modelo animal investigou a eluição dos monômeros não reagidos a partir de composições das resinas *Bulk fill*. O presente estudo visou a obtenção de resultados de toxicidade em nível tecidual a fim de verificar o comportamento da resposta inflamatória em um tecido organizado semelhante aos tecidos pulpares e periodontais.

O processo de polimerização de compósitos de base resinosa depende de vários fatores. A extensão da conversão polimérica nas resinas compostas pode ser medida quantitativamente pela comparação da quantidade de duplas ligações C=C remanescentes em relação a quantidade inicial. Essa relação é expressa em % e denominada grau de conversão (GC) (ALSHALI *et al*, 2103). O GC é determinado por fatores intrínsecos como composição, proporção e estrutura química do monômero, teor

de carga, tipo e concentração de fotoiniciador, além de fatores extrínsecos, como as condições de polimerização (STANSBURY, 2012; LEPRINCE *et al*, 2013).

Em relação à composição dos monômeros, o grau de conversão aumenta na seguinte ordem: Bis-GMA < Bis-EMA < UDMA < TEGDMA (SIDERIDOU *et al*, 2002). Já com relação à polimerização, a luz que causa a ativação do fotoiniciador é atenuada por absorção e espalhamento, dessa forma a profundidade da cura do composto depende da capacidade do material de transferir luz para suas profundidades. (BUCUTA *et al*, 2014), levando a uma diminuição gradual no GC em camadas mais profundas do material (PRICE *et al*, 2000). Um baixo GC também pode estar relacionado à baixa penetração de luz de comprimento de onda curto (violeta) no interior do compósito (MILES *et al*, 2001; ZORZIN *et al*, 2015).

A diferença na profundidade de cura também pode estar relacionada à viscosidade dos compósitos no estado não curado. A viscosidade é influenciada pela composição do monômero e pelo conteúdo de carga e é um parâmetro importante no que diz respeito à cinética de reação e GC final, porque este parâmetro afeta a mobilidade das moléculas. O Bis-GMA é considerado o monômero mais viscoso e menos flexível devido a forte ligação intramolecular do hidrogênio com seus grupos hidroxílicos e a presença de núcleos aromáticos rígidos em sua estrutura. O UDMA é também um monômero considerado viscoso devido à interação intramolecular da ligação de hidrogênio entre seus grupos amino (NH) e carbonila (CO). No entanto, a viscosidade do UDMA é muito menor do que a do Bis-GMA devido à fraca ligação de hidrogênio do seu grupo amino (NH) em comparação com a dos grupos hidroxila (OH) (KHATRI, 2003). Diferentemente, quando o Bis-GMA é diluído com o monômero TEGDMA, que possui baixa viscosidade, um efeito sinérgico na taxa de polimerização e GC tem sido observado (SIDERIDOU, 2002).

Polímeros dentais baseados em Bis-EMA e contendo monômeros de uretano de baixa viscosidade tendem a exibir valores mais elevados de GC do que a resina Bis-GMA / TEGDMA típica. De acordo com os resultados desse estudo, a resina *Bulk fill* da marca Kerr®, em sua porção mais profunda (4mm), apresentou resultados de GC piores em relação aos demais grupos. Possivelmente esse achado esteja relacionado às características reativas do Bis-GMA que existe em sua composição em maior proporção que os demais grupos testados. Além disso o menor valor de GC na parte inferior das restaurações pode estar relacionado ao seu alto conteúdo de carga, o que diminui a translucidez (HALVORSON *et al*, 2003).

O grau de conversão de um compósito é crucial para determinar sua biocompatibilidade (SANTOS *et al*, 2014). Tem sido demonstrado que diminuições no GC podem levar a uma diminuição nas propriedades físico-mecânicas e a um aumento na eluição de monômeros, podendo afetar negativamente o tecido pulpar (SANTOS *et al*, 2014). Componentes não consolidados de compósitos se difundem através da dentina para a polpa ou eluem para a cavidade oral (SASAKI *et al*, 2005). Estas substâncias também podem ser distribuídas sistemicamente por todo o organismo, sendo absorvidas pela circulação sanguínea ou engolidas junto a saliva, causando conseqüentemente efeitos sistêmicos adversos (REICHL *et al*, 2001; GEURTSSEN, 2000).

Tem sido sugerido que existe uma relação significativa entre monômeros não polimerizados e efeitos citotóxicos (FERRACANE *et al*, 1994). Os monômeros residuais após a polimerização, podem ser liberados nos fluidos orais ou na dieta e produzir efeitos citotóxicos (GEURTSSEN *et al*, 1998), além de poder causar desequilíbrio celular, aumentando os níveis de oxidação (ROS) e subsequente morte celular via apoptose, bem como danos no DNA (KRIFKA *et al*, 2013). O menor grau de conversão encontrado nas porções profundas da resina *Bulk fill* da marca Kerr® pode estar diretamente relacionado aos resultados de permanência de níveis inflamatórios teciduais por mais tempo (28 dias).

Os monômeros residuais, como TEGDMA e Bis-GMA, que são liberados de resinas compostas, mostram induzir citotoxicidade diferencial e apoptose em células da polpa dental humana (CHANG *et al*, 2005; CHANG *et al*, 2009). Estudos demonstram que monômeros, como TEGDMA, HEMA e Bis-GMA, induzem a produção de stress oxidativo nas células da polpa dentária (ECKHARDT *et al*, 2009). O BisGMA exerce ação citotóxica pela expressão de COX2 e produção de PGE2 via espécies reativas de oxigênio através de diferentes vias de sinalização química. (Chang *et al*, 2009). Embora existam estudos independentes avaliando a citotoxicidade ou eluição (VAN LANDUYT *et al*, 2011; PULGAR *et al*, 2000; SEISS *et al*, 2009) de compósitos dentais, ainda há ambigüidade sobre o papel da composição na eluição e sua correlação com a citotoxicidade em diferentes linhagens celulares.

Um fator importante que afeta a lixiviação de monômeros residuais é a natureza e tamanho molecular dos monômeros na resina. Espera-se que as moléculas menores lixiviem mais rapidamente que as moléculas maiores. Monômeros de pequeno peso molecular podem ser extraídos em quantidades consideravelmente maiores que os monômeros de grande peso molecular (FERRANCE, 1994). O TEDGMA é um

monômero de pequeno peso molecular que exhibe maior mobilidade e é eluído mais rapidamente que moléculas grandes, como o Bis-GMA (TANAKA *et al*, 1991). Apesar do tamanho da molécula de Bis-GMA ser maior, o seu menor GC pode justificar a exibição de uma maior taxa de toxicidade pelas resinas que possuem mais quantidade deste monômero, resultado que foi observado no presente estudo. A ausência de TEGDMA e a presença de pre-polímeros podem levar à eluição de altas quantidades de monômeros residuais a partir das resina. Outra questão que deve ser considerada é que a lipossolubilidade dos monômeros afeta sua citotoxicidade. O BisGMA é mais lipossolúvel do que o UDMA, causando assim uma penetração celular mais eficaz do que o UDMA (ISSA *et al*, 2004), o que pode justificar os resultados encontrados no presente estudo.

É importante enfatizar que a investigação sobre os efeitos biológicos de materiais à base de resinas geralmente inclui várias substâncias mais comumente usadas (monômeros, oligômeros, fotoiniciadores) atuando separadamente (VOLK *et al*, 2009; CHANG *et al*, 2014) ou em conjunto. Assim, é importante considerar que duas ou mais substâncias podem exercer efeitos citotóxicos e genotóxicos significativos isoladamente, mas, em combinação, podem interagir e produzir efeitos tóxicos diferentes dos esperados de suas ações isoladas (RATANASATHIEN *et al*, 1995; WISNIEWSKA-JAROSINSKA *et al*, 2010). Uma vez que os fabricantes não disponibilizam as fórmulas exatas da composição das resinas por questões de patentes, a avaliação dessa interação entre os componentes se torna inviável.

É importante expor ainda que vieses na interpretação dos dados podem acontecer, sendo possível que outros componentes possam estar relacionados diretamente aos achados de toxicidade, como os encontrados neste trabalho.

Melhorias recentes da matriz orgânica incluem o desenvolvimento de novos monômeros de metacrilato e fotoiniciadores. A contração de polimerização e os riscos potenciais associados à toxicidade do dimetacrilato de glicidil (Bis-GMA) (CHANG *et al*, 2009) e aos efeitos estrogênicos de seu precursor bisfenol-A (HASHIMOTO *et al*, 2000) levaram ao desenvolvimento de alternativas ao bisfenol-A como derivados de dimetacrilato de uretano (UDMA) e monômeros de cadeia longa com alto peso molecular. Dessa forma, é imprescindível que modificações sejam realizadas nas matrizes poliméricas a fim de garantir as características mecânicas adequadas necessárias aos materiais restauradores e, principalmente, a sua compatibilidade tecidual.

8. Conclusão

Diante das limitações deste estudo, pode-se concluir que a resposta inflamatória tecidual após inoculação de resinas é variável de acordo com o material e com o tempo de exposição. Os grupos que tiveram menor grau de conversão e maior relação entre os resíduos de Bis-GMA/UDMA apresentaram resposta inflamatória tecidual por mais tempo.

9. Referências

- ALSHALI, R. Z.; SILIKAS, N.; SATTERTHWAITTE, J. D. Degree of conversion of bulk-fill compared to conventional resin-composites at two time intervals. *Dental Materials*, v. 29, n. 9, p. e213– e217, 2013.
- BAGIS, Y.; RUEGGERBERG, F. Mass loss in urethane/TEGDMA and Bis-GMA/TEGDMA based resin composites during post curing heating. *Dent Mater.*, v. 13, p. 377-380, 1997.
- BENETTI, A. *et al.* Bulk fill resin composites polymerization contraction, depth of cure and gap formation. *Oper. Dent.*, v. 40, p. 190-200, 2015.
- BAUSCH, J.; LANGE, C.; DAVIDSON, C. The influence of temperature on some physical properties of dental composites. *J Oral Rehabil*, v. 8, p. 309-317, 1981.
- BOWEN, R. Properties of a silica-reinforced-polymer for dental restorations. *J. Am. Dent Assoc.*, v. 66, p. 57-64, 1963.
- BUCUTA, S.; ILIE, N. Light transmittance and micro-mechanical properties of bulk fill vs. conventional resin based composites. *Clin Oral Investig*, 2014;18(8):1991–2000.
- CAMPODONICO, C.; TANTBIROJN, D.; OLIN P.; VERSLUIS, A. Cuspal deflection and depth of cure in resin-based composite restorations filled by using bulk, incremental and transtooth-illumination techniques. *J Am Dent Assoc*, 2011.
- CAMPOS, E. A. *et al.* Marginal adaptation of class II cavities restored with bulk-fill composites. *Journal of Dentistry*, v. 42, n. 5, p. 575–581, 2014.
- CAUGHMAN, W.; CAUGHMAN, G.; SHIFLETT, R.; RUEGGERBERG, F.; SCHUSTER, G. Correlation of cytotoxicity, filler loading and curing time of dental composites. *Biomaterials*, v. 12, p. 737-740, 1991.
- CEBE, M. A. *et al.* Elution of monomer from different bulk fill dental composite resins. *Dental Materials*, v. 31, n. 7, p. e141–e149, 2015.
- CHANG, H.; CHANG, M.; WANG, H.; HUANG, G.; LEE, Y.; WANG, Y. Urethane dimethacrylate induces cytotoxicity and regulates cyclooxygenase-2, hemeoxygenase and carboxylesterase expression in human dental pulp cells. *Acta Biomate*, 2014.
- CHANG, H.; GUO, M.; KASTEN, F.; CHANG, M.; HUANG, G.; WANG, Y. Stimulation of glutathione depletion, ROS production and cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials* 26, 2005.
- CHANG, M. *et al.* The effect of BisGMA on cyclooxygenase-2 expression, PGE2

production and cytotoxicity via reactive oxygen species-MEK/ERK-dependent and independent pathways. *Biomaterials*, 2009.

CONDITT, M.; LEINFELDER, K. Improving the polymerization of composite resins. *Pract Proced Aesthet Dent*, v. 18, p. 169-171, 2006.

CZASCH, P.; ILIE, N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. *Clinical Oral Investigations*, v. 17, n. 1, 2013.

ECKHARDT, A.; GERSTMAYR, N.; HILLER, K.; BOLAY, C.; WAHA, C.; SPAGNUOLO, G. TEGDMA-induced oxidative DNA damage and activation of ATM and MAP kinases. *Biomaterials* 30, 2009.

FERRACANE, J. Resin composite-State of the art. *Dent Mater*, v. 27, p. 29-38, 2011.

FERRANCE, J. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil*, v. 4, p. 441-452, 1994.

FERRANCE, J.; CONDON, R. Post-cure heat treatments for composites: properties and factography. *Dent Mater*, v. 8, p. 290-295, 1992.

FINAN, L.; PALIN, WM.; MOSKWA, N.; MCGINLEY, EL.; FLEMING, G. The influence of irradiation potential on the degree of conversion and mechanical properties of two bulk-fill flowable RBC base materials. *Dent Mater*, 2013.

FLURY, S. *et al.* Depth of cure of resin composites: Is the ISO 4049 method suitable for bulk fill materials? *Dental Materials*, v. 28, n. 5, p. 521-528, 2012.

FRONZA, B. M. *et al.* Monomer conversion, microhardness, internal marginal adaptation, and shrinkage stress of bulk-fill resin composites. *Dental Materials*, v. 31, n. 12, p. 1542-1551, 2015.

GAJEWSKI, V.; PFEIFER, C.; SALGADO, N.; BOARO, L.; BRAGA, R. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Braz Dent.*, v. 23, p. 508-514, 2012.

GAROUSHI, S.; VLLITTU, P.; LASSILA, L. Fracture toughness, compressive strength and load-bearing capacity of short glass fibre reinforced composite resin. *Chin. J. Dent. Res.*, v. 14, p. 9-15, 2011.

GEURTSSEN, W.; SPAHL, W.; LEYHAUSEN, G. Residual monomer/additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cements and compomers. *J Dent Res*, 1998; 77, 2012-2019.

GEURTSSEN, W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2000.

- GOLDBERG, M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: A review. *Clinical Oral Investigations*, v. 12, n. 1, p. 1–8, 2008.
- HALVORSON, RH.; ERICKSON, RL.; DAVIDSON, CL. The effect of filler and silane content on conversion of resin-based composite. *Dent Mater*, 2003.
- HASHIMOTO, Y.; NAKAMURA, M. Estrogenic activity of dental materials and bisphenol-A related chemicals in vitro. *Dent Mater J*, 2000.
- HIRATA, R. *et al.* Bulk Fill Composites: An Anatomic Sculpting Technique. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, v. 27, n. 6, p. 335–343, 2015.
- ILIE, N.; BUCUTA, S.; DRAENERT, M. Bulk-fill Resin-based Composites: An *In Vitro* Assessment of Their Mechanical Performance. *Operative Dentistry*, v. 38, n. 6, p. 618–625, 2013.
- ISSA, Y.; WATTS, DC.; BRUNTON, PA.; WATERS, CM.; DUXBURY, AJ. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater*, 2004.
- JANDT, K. D.; SIGUSCH, B. W. Future perspectives of resin-based dental materials. *Dental Materials*, v. 25, n. 8, p. 1001–1006, 2009.
- KALACHANDRA, S.; TAYLOR, D.; DEPORTER, C.; GRUBBS, H. Polymeric materials for composite matrices in biological environments. *Polymer*, v. 34, p. 778-782, 1993.
- KHATRI, C.; STANSBURY, J.; SCHULTHEISZ, C.; ANTONUCCI, J. Synthesis, characterization and evaluation of urethane derivatives of Bis-GMA. *Dental Materials*, 2003.
- KIM, M.; PARK, S. Comparison of premolar cuspal deflection in bulk or in incremental composite restoration methods. *Oper Dent*, 2011.
- KIM, E. *et al.* Effect of resin thickness on the microhardness and optical properties of bulk-fill resin composites. *Restor Dent Endod.*, v. 40, n. 2, p. 128–135, 2015.
- KIM, R. J. Y. *et al.* Polymerization shrinkage, modulus, and shrinkage stress related to tooth-restoration interfacial debonding in bulk-fill composites. *Journal of Dentistry*, v. 43, n. 4, p. 430–439, 2015.
- KRIFKA, S. *et al.* A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials*, v. 34, n. 19, p. 4555–4563, 2013.
- LAGOCKA, R.; JAKUBOWSKA, K.; CHLUBEK, D. Advances in Medical Sciences Elution study of unreacted TEGDMA from bulk-fill composite (SDR TM Dentsply)

using HPLC. v. 60, p. 191–198, 2015.

LANDUYT, K. L. *et al.* Evaluation of cell responses toward adhesives with different photoinitiating systems. *Dental Materials*, v. 31, n. 8, p. 916–927, 2015.

LEMPEL, E. *et al.* Degree of conversion and BisGMA, TEGDMA, UDMA Elution from flowable bulk fill composites. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 5, p. 1–13, 2016.

LEPRINCE, J.; PALIN, W.; HADIS, M.; DEVAUX, J.; LELOUP, G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dent Mater*, 2013.

LEPRINCE, J. G. *et al.* Physico-mechanical characteristics of commercially available bulk-fill composites. *Journal of Dentistry*, v. 42, n. 8, p. 993–1000, 2014.

LI, X. *et al.* Curing profile of bulk-fill resin-based composites. *Journal of Dentistry*, v. 43, n. 6, p. 664–672, 2015.

LOVELL, L.; NEWMAN, S.; BOWMAN, C. The effects of light intensity, temperature and comonomer composition on the polymerization behavior of dimethacrylate dental resins. *J. Dent Res*, v. 78, p. 1469-1476, 1999.

MANOJLOVIC, D. *et al.* Cytotoxicity and genotoxicity of a low-shrinkage monomer and monoacylphosphine oxide photoinitiator: Comparative analyses of individual toxicity and combination effects in mixtures. *Dental Materials*, v. 33, n. 4, p. 454–466, 2017.

MILES, R.; LEMPERT, W.; FORKEY, J. Laser Rayleigh scattering. *Meas Sci Technol* 2001.

MOORTHY, A.; HOGG, C.; DOWLING, A.; GRUFFERTY, B.; BENETTI, A.; FLEMING, G. Cuspal deflection and microleakage in premolar teeth restored with bulk-fill flowable resin-based composite base materials. *J Dent*, 2012.

PILO, R.; OELGIESSER, D.; CARDASH, H. A survey of output intensity and potential for depth of cure among light-curing units in clinical use. *J Dent*, 1999.

PONGPRUEKSA, P. *et al.* Monomer elution in relation to degree of conversion for different types of composite. *Journal of Dentistry*, v. 43, n. 12, 2015.

PRICE, R.; MURPHY, D.; DERAND, T. Light energy transmission through cured resin composite and human dentin. *Quintessence Int*, 2000.

PULGAR, R.; OLEA-SERRANO, M.; NOVILLO-FERTRELL, A.; RIVAS, A.; PAZOS, P.; PEDRAZA, V. Determination of bisphenol A and related aromatic released from BisGMA-based composites and sealants by high performance liquid

chromatography. *Env Health Perspect*, 2000.

RATANASATHIEN, S.; WATAHA, J.; HANKS, C.; DENNISON, J. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res*, 1995.

REICHL, F.; DURNER, J.; HICKEL, R.; KUNZELMANN, K.; JEWETT, A.; WANG, M. Distribution and excretion of TEGDMA in guinea pigs and mice. *J Dent Res*, 2001.

ROSATTO, C. M. P. *et al.* Mechanical properties, shrinkage stress, cuspal strain and fracture resistance of molars restored with bulk-fill composites and incremental filling technique. *Journal of Dentistry*, v. 43, n. 12, 2015.

SANTOS, R.; SAMPAIO, G.; CARVALHO, F.; PITHON, M.; GUENES, G.; ALVES, P. Influence of degree of conversion on the biocompatibility of different composites in vivo. *J Adhes Dent*, 2014.

SARRETT, D. *et al.* Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater*, 2005.

SASAKI, N.; OKUDA, K.; KATO, T.; KAKISHIMA, H.; OKUMA, H.; ABE, K. Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *J Mater Sci Mater Med*, 2005.

SCHMALZ, G.; GALLER, K. M. Biocompatibility of biomaterials - Lessons learned and considerations for the design of novel materials. *Dental Materials*, v. 33, n. 4, p. 382–393, 2017.

SCOTTI, N.; *et al.* Microleakage at enamel and dentin margins with bulk fills flowable resin. *Eur. J. Dent.*, v. 8, p. 1-8, 2014.

SEISS, M.; LANGER, C.; HICKEL, R.; REICHL, F. Quantitative determination of TEGDMA, BHT, and DMABEE in eluates from polymerized resin-based dental restorative materials by use of GC/MS. *Arch Toxicol*, 2009.

SIDERIDOU, I.; TSERKI, V.; PAPANASTASIOU, G. Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*, 2002.

SISMAN, R. *et al.* Cytotoxic effects of bulk fill composite resins on human dental pulp stem cells. *Journal of oral science*, v. 58, n. 3, p. 299–305, 2016.

STANSBURY, J. *et al.* Dimethacrylate network formation and polymer property evolution as determined by the selection of monomers and curing conditions. *Dent Mater*, 2012.

TANAKA, K.; TAIRA, M.; SHINTANI, H.; WAKASA, K.; YAMAKI, M. Residual

monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J Oral Rehabil*, 1991.

TOH, W.; YAP, A.; LIM, S. *In Vitro* Biocompatibility of Contemporary Bulk-fill Composites. *Operative Dentistry*, v. 40, n. 6, p. 644–652, 2015.

VAN DIJKEN, J.; PALLESEN, U. A randomized controlled three year evaluation of “bulk-filled” posterior resin restorations based on stress decreasing resin technology. *Dent Mater*, 2014.

VAN ENDE, A.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; POITEVIN, A.; PEUMANS, M.; VAN MEERBEEK, B. Bulk-filling of high C-factor posterior cavities: effect on adhesion to cavity-bottom dentin. *Dent Mater*, 2013.

VAN LANDUYT, K.; NAWROT, T.; GEEBELEN, B.; DE MUNCK, J.; SNAUWAERT, J.; VOLK, J.; ZIEMANN, C.; LEYHAUSEN, G.; GEURTSSEN, W. Non-irradiated campherquinone induces DNA damage in human gingival fibroblasts. *Dent Mater*, 2009.

WATAHA, J.; BRACKETT, M.; LOCKWOOD, P.; MESSER, R.; LEWIS, J.; BOUILLAGUET, S. In vitro cytotoxic response to lithium disilicate dental ceramics. *Dent Mater*, 2008.

WISNIEWSKA-JAROSINSKA, M.; POLAVSKI, T.; CHOJNACKI, C.; PAWLOWSKA, E.; KRUPA, R.; SZCZEPANSKA, J. Independent and combined cytotoxicity and genotoxicity of triethylene glycol dimethacrylate and urethane dimethacrylate. *Mol Biol Rep*, 2010.

ZORZIN, J.; MAIER, E.; HARRE, S.; FEY, T.; BELLI, R.; LOHBAUER, U. Bulk-fill resin composites: polymerization properties and extended light curing. *Dent Mater*, 2015.

ZORZIN, J. *et al.* Bulk-fill resin composites: Polymerization properties and extended light curing. *Dental Materials*, v. 31, n. 3, p. 293–301, 2015.

ANEXO 1- Parecer comitê de ética

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

Unichristus
Centro Universitário Christus

Of. No. 012/17

Protocolo da CEUA: 012/17

Pesquisador Responsável: Prof. FRANCISCO CLÁUDIO FERNANDES ALVES E SILVA

Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE TECIDUAL DE UMA RESINA BULK-FILL.

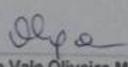
Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 19 (dezenove) de abril de 2017.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Rattus norvegicus, fêmea, pesando entre 180 e 220 gramas.	Número Amostral:	30
----------	---	------------------	----

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 19/04/2018.

Fortaleza, 19 de abril de 2017.


Olga Vale Oliveira Machado
Coordenadora
CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE

Campus Fortaleza
Rua ...
 Campus São Paulo
Rua ...
 Campus Curitiba
Rua ...
 Campus Recife
Rua ...